

## Inhaltsverzeichnis.

## Band VIII.

	Seite
Atanasoff, D., Mosaic of Stone Fruits	259
- Old and new virus diseases of trees and shrubs	197
Buchheim, Alexander, Einfluß von Brandbefall auf Wachstum und Habitusbild der	
Wirtspflanze	615
Costa, A. S. und Krug, H. P., Eine durch Ceratostomella hervorgerufene Welkekrank-	
heit der Crotalaria juncea in Brasilien	507
Christoff, Alexander, Mosaikfleckigkeit, Chlorose und Stippenfleckigkeit bei Äpfeln,	
Birnen und Quitten	285
Gäumann, Ernst, Über die pflanzenpathogene Wirkung der Erdstrahlen	183
	100
Gregor, Mary J. F., A disease of Bracken and other ferns caused by Corticium anceps	000
(Bres. ed Syd.) Gregor.	399
Isenbeck, K., Untersuchungen über die Physiologie von Sphacelotheca sorghi, dem ge-	
deckten Körnerbrand von Sorghum	165
Kaho, Hugo, Zur Physiologie der Kartoffel I	157
Zur Physiologie der Kartoffel II	321
Klinkowski, M., Die Bechholdsche Kupferprobe als diagnostisches Hilfsmittel zur Be-	
urteilung des Gesundheitszustandes von Kartoffelknollen	421
Löbner, A., Das Zeiß-Konimeter und seine Anwendungsmöglichkeiten	633
Müller, Karl M., Erste Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Bodenaktivität	
und Pflanzenwuchs mit einem neuen physikalischen Meßgerät	624
Nemec, Antonin, Beitrag zur Kenntnis der chemischen Beschaffenheit von krebs-	
verseuchten Kartoffelböden	303
Pichler, Friedrich, Über die Verwendbarkeit von Wasserstoffsuperoxyd als Saatgut-	
beizmittel	245
Quanjer, H. M. und Gäumann, Ernst, Versuche über den Einfluß des Klimas auf	
den (fesundheitszustand der Kartoffelpflanze	307
Radulescu, Eugen, Untersuchungen über die physiologische Spezialisierung bei Flug-	
brand des Weizens Ustilago tritici (Pers.) Jens.	258
Renner, Sophie, Beitrag zur Kenntnis einiger Wurzelpilze	457
Röder, Kurt, Untersuchungen über die Phytophthorakrankheit (Phytophthora infestans)	401
der Tomate	589
Ronsdorf, Liselotte, Weitere Untersuchungen über den Nachweis biologischer Rassen	909
des Gerstenzwergrostes, Puccinia simplex Erikss. et Henn	005
	237
Roth, Conrad, Untersuchungen über den Wurzelbrand der Fichte (Picea excelsa Link.)	1
Scharrer, K. und Schropp, W., Gefäß- und Wasserkulturversuche über die Wirkung	
des Bors allein und in Kombination mit Jod in Düngemitteln	<b>525</b>
Schmidt, E. W., Zur pathologischen Physiologie albicater und mosaikkranker Zucker-	
rüben-Blätter	861
Shapovalov, Michael und Dufrenoy, J., Cytologische Beobachtungen an einer Virus-	
krankheit vom Typus "Streak" oder "Strichel"	297
Stelzner, Dr. Gerhard, Einfacher Nachweis von Hyphen parasitärer Pilze im Halm	
der Gramineen	<b>3</b> 67

	Seite
Steven, W. F., Studies on the Cultural Behaviour and Pathogenicity of a strain of Valsa	489
Straib, W., Untersuchungen über erbliche Blattnekrosen des Weizens	541
Verona, O. e Ceccarelli, A., Su di una tracheomicosi dell'amaranto (Amarantus tricolor	
L.) prodotta del una specie di Fusarium e da Verticillium amaranti n. sp. e, in	
genere, sulla biologia di alcuni Verticillium patogeni	371
Wartenberg, Hans, Über "Frostblasen" an Blättern des Apfelbaumes	515
Wilhelm, A. F., Untersuchungen über die Kälteresistenz winterfester Kulturpflanzen	
unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses verschiedener Mineralsalz-	
ernährung und des N-Stoffwechsels	111
- Studien über die Bedeutung der Lipoide, insbesondere der Phosphatide, für die	
Frostresistenz der Pflanzen	225
- Untersuchungen über das Verhalten sogenannter nicht eisbeständiger Kultur-	
pflanzen bei niederen Temperaturen, unter besonderer Berücksichtigung des Ein-	
flusses verschiedener Mineralsalzernährung und des N-Stoffwechsels	335

## Inhaltsverzeichnis.

Heft 1.	Seite
Untersuchungen tiber den Wurzelbrand der Fichte (Picca excelsa Link.). Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich. Von Conrad Roth. (Mit 40 Textabbildungen.)	1
Heft 2.	
Untersuchungen über die Kälteresistenz winterfester Kulturpflanzen unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses verschiedener Mineralsalzernährung und des N-Stoffwechsels. Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Bonn-Poppelsdorf. Von A.F. Wilhelm. (Mit 1 Textabbildung.).	111
Zur Physiologie der Kartoffel. I. Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des	111
botanischen Instituts der Universität Tartu (Estland). Von Hugo Kaho Untersuchungen über die Physiologie von Sphacelotheca sorghi, dem gedeckten Körnerbrand von Sorghum. Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der University Farm,	157
St. Paul, Minn. U. S. A. Von K. Isenbeck. (Mit 5 Textabbildungen.)	165
Old and new virus diseases of trees and shrubs. Institute of Phytopathology, Faculty of	183 197
Heft 3.	
Studien über die Bedeutung der Lipoide, insbesondere der Phosphatide, für die Frost-	
resistenz der Pflanzen. Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Landwirt-	372
Puccinia simplex Erikss. et Henn. Aus dem Phytopathologischen Laboratorium	287
	245
Untersuchungen über die physiologische Spezialisierung bei Flugbrand des Weizens Ustilago tritici (Pers.) Jens. Aus der Station für Pflanzenzüchtung und Samenkontrolle in Cluj. Von Eugen Radulescu	253
Mosaic of Stone Fruits. Institute of Phytopathology, Faculty of Agriculture. Sofia,	
Bulgaria. By D. Atanasoff. (With 26 Figures.)	259
Alexander Christoff. (Mit 12 Textabbildungen.)	285
Aus dem "Bureau of Plant Industry, U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C." und der "Station de Pathologie Végétale Pont de la Maye. Gironde, France".  Von Michael Shapovalov und J. Dufrenoy. (Mit 8 Textabbildungen.)	297
	308
Heft 4.	
Versuche über den Einfluß des Klimas auf den Gesundheitszustand der Kartoffelpflanze.  Aus dem Institut für Phytopathologie der Landbauhochschule in Wageningen und dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich. Von H. M. Quanjer und Ernst Gäumann. (Mit 6 Textabbildungen.)	307

	Seite
Zur Physiologie der Kartoffel II. Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des	901
botanischen Instituts der Universität Tartu (Estland). Von Hugo Kaho	<b>321</b>
Untersuchungen über das Verhalten sogenannter nicht eisbeständiger Kulturpflanzen bei	
niederen Temperaturen, unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses ver-	
schiedener Mineralsalzernährung und des N-Stoffwechsels. Aus dem Institut für	
Pflanzenkrankheiten der Landwirtschaftlichen Hochschule Bonn-Poppelsdorf. Von	
A. F. Wilhelm. (Mit 2 Textabbildungen.)	<b>335</b>
Zur pathologischen Physiologie albicater und mosaikkranker Zuckerrüben-Blätter. Aus	
dem Forschungsinstitut Klein-Wanzleben. Von E. W. Schmidt	361
Einfacher Nachweis von Hyphen parasitärer Pilze im Halm der Gramineen. Aus dem	
Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Leipzig. Von	
Dr. Gerhard Stelzner. (Mit 5 Textabbildungen.)	367
Su di una tracheomicosi dell'amaranto (Amarantus tricolor L.) prodotta da una specie di	
Fusarium e da Verticillium amaranti n. sp. e, in genere, sulla biologia di alcuni	
Vorticillium patogeni. Per O. Verona e A. Ceccarelli. (Mit 13 Textabbildungen.)	871
A disease of Bracken and other ferns caused by Corticium anceps (Bres. ed Syd.) Gregor.	
From the Royal Botanic Garden, Edinburgh. By Mary J. F. Gregor. (With	
11 Figures.)	399
·	
Heft 5.	
Die Bechholdsche Kupferprobe als diagnostisches Hilfsmittel zur Beurteilung des Gesund-	
heitszustandes von Kartoffelknollen. Aus der Biologischen Reichsanstalt für Land-	
und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem. Von M. Klinkowski. (Mit 10 Abbildungen.)	421
Beitrag zur Kenntnis einiger Wurzelpilze. Aus dem Institut für spezielle Botanik der	
Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich. Von Sophie Renner. (Mit	
15 Textabbildungen.)	457
Studies on the Cultural Behaviour and Pathogenicity of a strain of Valsa. Aus dem	
Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.	
By W. F. Steven. (With 5 figures and 1 plate.)	489
Eine durch Coratostomella hervorgerufene Welkekrankheit der Crotalaria juncea in Brasilien.	
Aus dem Agronomischen Institut des Staates São Paulo, Campinas, Brasilien. Von	
A. S. Costa und H. P. Krug. (Mit 8 Textabbildungen.)	507
Über "Frostblasen" an Blättern des Apfelbaumes. Biologische Reichsanstalt für Land-	
und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem. Von Hans Wartenberg. (Mit 2 Textabb.)	515
Heft 6.	
Gefäß- und Wasserkulturversuche über die Wirkung des Bors allein und in Kombination	
mit Jod in Düngemitteln. Aus dem Agrikulturchemischen Institut Weihenstephan	
der Technischen Hochschule München. Von K. Scharrer und W. Schropp. (Mit	
6 Textabbildungen.)	525
Untersuchungen über erbliche Blattnekrosen des Weizens. Aus dem Institut für Landwirt-	
schaftliche Botanik Braunschweig-Gliesmarode. Von W. Straib. (Mit 10 Textabb.)	541
Untersuchungen über die Phytophthorakrankheit (Phytophthora infestans) der Tomate.	
Von Kurt Röder. (Mit 9 Textabbildungen.)	589
Einfluß von Brandbefall auf Wachstum und Habitusbild der Wirtspflanze. Aus dem	
phytopathologischen Laboratorium der Landwirtschaftlichen (Timirjasjewschen)	
Akademie in Moskau. Von Alexander Buchheim. (Mit 3 Textabbildungen.)	615
Erste Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Bodenaktivität und Pflanzenwuchs	
mit einem neuen physikalischen Meßgerät. Von Karl M. Müller. (Mit 2 Textabb.)	624
Das Zeiß-Konimeter und seine Anwendungsmöglichkeiten. Von A. Löhner	633
5 3	

## Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.

Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann.

# Untersuchungen über den Wurzelbrand der Fichte (Picea excelsa Link.).

Von

#### Conrad Roth.

Mit 40 Textabbildungen.

Inhalt: Einleitung: 1. Definition des Wurzelbrandes. 2. Das Auftreten des Wurzelbrandes. - 1. Kapitel: Beobachtungen an Freilandmaterial. — 2. Kapitel: Die Laboratoriumsversuche: 1. Der Wirt: A. Allgemeines; B. Der Einfluß der Temperatur auf den Wirt; C. Der Einfluß der Wasserstoffionen-Konzentration des Bodens auf den Wirt. 2. Die Parasiten: A. Der Einfluß der Temperatur auf die Parasiten: a) Das Myzelwachstum auf festem Nährboden; b) Das Myzelwachstum in Nährlösung. B. Der Einfluß der Wasserstoffionen-Konzentration auf die Parasiten. 3. Das gegenseitige Verhalten von Parasit und Wirt: A. Die Pathogenität der verschiedenen Parasiten; B. Der Einfluß der Temperatur auf den Befall: a) Virulenzversuche; b) Wachstumsversuche; c) Schlußfolgerungen. C. Der Einfluß der Wasserstoffionen-Konzentration des Bodens auf den Befall: a) Virulenzversuche; b) Wachstumsversuche; c) Schlußfolgerungen. D. Der Einfluß des Wassergehaltes des Bodens auf den Befall: a) Virulenzversuche; b) Wachstumsversuche; c) Schlußfolgerungen. E. Der Einfluß des Entwicklungsgrades (Alter) des Wirtes auf den Befall. — 3. Kapitel: Die Freilandversuche. — 4. Kapitel: Schlußfolgerungen. Abwehrmaßnahmen. — Zusammenfassung. — Zitierte Literatur.

## Einleitung.

### 1. Definition des Wurzelbrandes.

Unter dem Wurzelbrand der Nadelhölzer versteht man Krankheitserscheinungen, die im Laufe der ersten Vegetationsperiode an den Keimpflanzen auftreten und auf die Tätigkeit von Pilz-Parasiten zurückzuführen sind. Die Erkrankung besteht in der Regel in einer Zerstörung der Gewebe der Wurzel oder des untersten Teils des Keimstengels, seltener der Keimnadeln oder des oberen Stengelteils. Der Begriff Wurzelbrand umfaßt ferner die Zerstörung der im Boden liegenden Samen, soweit sie durch parasitische Pilze verursacht ist.

Das in der forstlichen Praxis am häufigsten beobachtete Krankheitsbild ist gekennzeichnet durch eine mehr oder weniger deutliche, weißgelbliche bis gelblichbraune Verfärbung des untersten Teils des Keimstengels unmittelbar über der Bodenoberfläche. Diese Erscheinung macht

auf die an dieser Stelle begonnene Zerstörung und Schrumpfung der Gewebe aufmerksam, die das Umfallen der Keimpflanze zur Folge haben. Wenn der Befall der Wurzelgewebe zuerst erfolgt, so fällt der Keimling in dem Zeitpunkt um, wo die Gewebe des Keimstengels knapp über der Bodenoberfläche in die Zerstörung miteinbezogen werden. Das Umfallen ist durch die physikalische Schwächung des Stengels verursacht und nicht auf Unterbindung der Wasserzirkulation und dadurch bedingtes Welken zurückzuführen. In kürzester Zeit, oft sogar innerhalb Tagesfrist, erfolgt dann die vollständige Zersetzung oder Austrocknung und Schrumpfung der Keimpflanze, so daß diese fast unsichtbar wird. Da das Umfallen der wenige Wochen alten Keimlinge ein auffälliges Merkmal des Wurzelbrandes der Nadelhölzer ist, so findet sich dafür in der deutschen Literatur gelegentlich die Bezeichnung "Umfallkrankheit". Amerikanische Forstleute und Forscher verwenden im Hinblick auf das plötzliche und fast spurlose Verschwinden der Keimpflanzen den Ausdruck "damping-off". gleichbedeutend mit "Wegdampfen".

Bei hoher Luftfeuchtigkeit setzt gelegentlich die Erkrankung mit einer Zerstörung des oberen Teils des Keimstengels oder der Keimnadeln ein. Besonders leicht erfolgt die Infektion der Nadeln, solange diese mit den Spitzen in den Samenhüllen stecken. Nach unseren Beobachtungen kommt dieser Krankheitserscheinung jedoch nur geringe Bedeutung zu. Während bei dieser Form des Befalles eine Luftmyzelbildung des Parasiten auf der Wirtspflanze häufig von Auge beobachtet wird, ist sie bei der oben beschriebenen "Umfallkrankheit" meist gar nicht oder erst bei vollständiger Zerstörung der Keimpflanze feststellbar.

Zu der erwähnten Zerstörung der Samen und dem Wurzelbrand der bis ungefähr zwei Monate alten Keimpflanzen tritt als weitere Form der Erkrankung der Wurzelbrand der Keimlinge hinzu, die dieses Alter überschritten haben. Es kommt dabei zu einer teilweisen oder völligen Zerstörung des Wurzelsystems. Da die Gewebe des Keimstengels indessen eine bedeutende Festigung erfahren haben, erfolgt das bei den jüngeren Keimpflanzen übliche Umfallen nicht mehr. Im Gegensatz zum frühen Wurzelbrand, bei dem die Erkrankung für die Keimlinge meist tödliche Wirkung besitzt, wirkt der späte Wurzelbrand nur bei denjenigen Keimlingen abtötend, die eine vollständige Zerstörung des ganzen Wurzelgewebes erlitten haben: sie können mit zwei Fingern widerstandslos aus dem Boden gezogen werden. Wie die schwächer befallenen Keimpflanzen zeigen sie anfänglich nur Gelbfärbung der Nadeln. Im Laufe des Herbstes oder Winters erfolgt Braunfärbung und vollständige Austrocknung, wobei die entwurzelten Pflanzen aber bis in den folgenden Sommer stehen bleiben Keimlinge, bei denen das Wurzelwerk nur eine teilweise Zerstörung erlitten hat, bilden nach kurzer Zeit neue Seitenwurzeln. vermögen sich zu erholen. allerdings unter bedeutendem Zuwachsverlust. Da sich unsere Beobachtungen mit denjenigen von Hartley (1921, S. 9-10) decken, übernehmen wir dessen Gliederung des Wurzelbrandes in drei zeitlich getrennte Befallsformen, von denen allerdings die beiden ersten in bezug auf Ursache und Wirkung unmittelbar ineinander übergreifen.

- 1. Früher Wurzelbrand, Keimverlust, germination loss.
- 2. Normaler Wurzelbrand, Umfallkrankheit, normal damping-off.
- 3. Später Wurzelbrand, late damping-off.

Alle drei Befallsarten des Wurzelbrandes sind auf die ausschließliche Tätigkeit von halbparasitischen Pilzen zurückzuführen. Scharf vom Wurzelbrand zu trennen sind Keimverluste und Schädigungen an Keimpflanzen, denen andere Ursachen zugrunde liegen. Erwähnt seien insbesondere die rein physiologisch bedingten Keimschäden, wie sie sich aus der Einwirkung des Temperaturfaktors auf den Keimungsvorgang ergeben (Mork, 1933). Auf gefährliche Hitzewirkungen an Keimpflanzen und weitere rein physikalisch verursachte Schädigungen machen Münch (1913, 1914) und Hartley (1913, 1918) aufmerksam. Nicht unter den Begriff des Wurzelbrandes fallen ferner die gelegentlich vorkommenden Zerstörungen von Samen oder Keimpflanzen bei hoher Temperatur und großer Luftfeuchtigkeit durch saprophytische Pilze (Penicillium-Arten), sowie durch Bakterien (Dounin und Goldmacher, 1926, S. 295-296). Als Ursache von Keimlingsschädigungen können auch Insekten auftreten. Es sei namentlich auf die verheerende Tätigkeit der Tipuliden-Larven hingewiesen, unter denen offenbar besonders Tipula crocata L. (gelbbindige Riesenschnake) als gefährlicher Forstschädling in Pflanzgärten und im Wald praktische Bedeutung Die durch die Tipuliden bewirkte Zerstörung der Keimpflanzen kurz nach Austritt aus dem Boden ist dadurch gekennzeichnet, daß die noch durch die Samenhüllen zusammengehaltenen Nadelspitzen oder der ganze obere Teil des Keimstengels samt dem Nadelwirtel abgebissen werden. Der stehenbleibende Rest der Keimpflanzen (Stengel und Wurzeln) geht nach einiger Zeit zugrunde. In zahlreichen forstlichen Pflanzgärten der Umgebung von Zürich (Zürichberg, Adlisberg, Zollikon), sowie auf eigenen, meist an Bestandesrändern liegenden Saat-Versuchsflächen bei Zürich (Loorenkopf, Zollikon) und Winterthur (Lindberg) stellten wir in den Monaten Mai und Juni der Jahre 1930-1932 massenhafte Vernichtung von Fichtensaaten durch Tipuliden-Larven fest. Besonders schwer waren die Schäden in künstlich bedeckten Saatbeeten, sowie an Saaten, die unter schwachem bis starkem Bestandesschluß lagen.

#### 2. Das Auftreten des Wurzelbrandes.

Die Feststellung von pilzparasitären Erkrankungen an Nadelholzkeimlingen ist erst gegen Ende des letzten Jahrhunderts erfolgt, zu einer Zeit, wo infolge der damaligen Methoden in der Forstwirtschaft in ausgedehnten Pflanzgärten große Pflanzenmengen unter künstlich geschaffenen Verhältnissen aufgezogen wurden. Da die Wurzelbranderkrankung am einzelnen Keimling infolge der Kleinheit des Wirtes und der Schnelligkeit, mit der dieser vernichtet wird, einen sehr unauffälligen Vorgang darstellt, ist es verständlich, daß das Vorkommen des Wurzelbrandes bis heute fast ausschließlich in Pflanzgärten und nur ausnahmsweise an natürlichen Verjüngungen im Wald beobachtet wurde.

Die ersten ausführlichen Arbeiten über das Vorkommen des Wurzelbrandes in Europa stammen von Hartig (1883, 1892). In der forstlichen Literatur findet sich von da an eine bedeutende Anzahl von Mitteilungen über das Auftreten von Epidemien in den Pflanzgärten Deutschlands (Sorauer, 1899, 1908, 1928, v. Tubeuf, 1902, 1914, Büttner, 1903, 1906, Baudisch, 1903, Neger, 1910, 1919). Neben Deutschland ist das Vorkommen von Wurzelbrand in zahlreichen Arbeiten fast für das ganze europäische Gebiet, in dem Nadelhölzer natürlich vorkommen, nachgewiesen. Nach v. Tubeuf (1908) stellt Rostrup (1895) den Wurzelbrand an Nadelholzkeimlingen in Dänemark fest. Schellenberg (1905) schildert bedeutende Wurzelbrandschäden in einem Pflanzgarten in der Schweiz. Lindfors (1922) weist das Vorkommen des Wurzelbrandes für Schweden nach. Dounin und Goldmacher (1926) melden schwere Wurzelbrandschäden, die in zahlreichen Pflanzgärten verschiedener Gouvernements Rußlands vorkamen. Nach Sibilia (1928) veröffentlichte Petri (1924) erstmals Arbeiten über parasitische Krankheiten an Nadelholzkeimlingen in Pflanzgärten Italiens. Delevoy (1926, 1927) weist das Vorkommen von Wurzelbrand für Belgien nach, Anderson (1930) für England und Christoff (1933) für Bulgarien.

Seit 1907 ist in den U.S.A. in rascher Folge eine größere Zahl von Publikationen erschienen. Die bedeutungsvollsten Arbeiten aus neuerer Zeit, die insbesondere auch biologische Fragen behandeln, stammen von Hartley, Merrill und Rhoads (1918), Hartley (1921), Rathbun (1922, 1923) und Rathbun-Gravatt (1925, 1931). Der Wurzelbrand der Nadelholzkeimlinge ist über große Gebiete der U.S.A. verbreitet.

Aus den Feststellungen der zuständigen Literatur ergibt sich die Tatsache, daß in Europa an sämtlichen einheimischen Nadelhölzern, wie auch an den meisten in den Pflanzgärten gezogenen exotischen Koniferen Wurzelbrand in mehr oder weniger starkem Ausmaße festgestellt worden ist. Es sei speziell auf die Zusammenstellung von Neger und Büttner (1907) hingewiesen.

Die in den U.S.A. erschienene Literatur meldet aus ihrem Untersuchungsgebiet den Befall aller in den forstlichen Pflanzgärten vorkommenden Nadelhölzer. Der Umstand, daß die meisten Wurzelbranderreger als plurivore Parasiten bekannt sind, indem sie außer Nadelholzkeimlingen auch Keimpflanzen mono- und dikotyler Kulturpflanzen befallen, läßt die

Vermutung aufkommen, daß sich ihre Tätigkeit nicht nur auf Nadel-, sondern auch auf Laubhölzer erstreckt. Unseres Wissens halten jedoch nur drei Untersuchungen die Tatsache fest, daß sich der Wurzelbrand, verursacht durch dieselben Erreger, sowohl auf Nadelholz- als auf Laubholz-Keimpflanzen gezeigt habe. Hartig (1892) stellt Wurzelbrand außer auf Fichte und Föhre auch auf Erle und Birke fest. Als Erreger wird eine Fusarium-Art angegeben. Doun in und Goldmacher (1926) weisen für Föhren, Esche und Birke verschiedene Fusarien als gemeinsame Parasiten nach. Christoff (1933) nennt als Wirtspflanzen derselben Wurzelbranderreger neben Pinus- und Picea- auch Acer-Arten.

Über den Grad der Empfänglichkeit der verschiedenen Holzarten in bezug auf den Wurzelbrand schlechthin, oder in bezug auf einzelne Pilzarten oder Stämme, bestehen sowohl Angaben europäischer Beobachter, als ausgedehnte Untersuchungen amerikanischer Forscher (Hartley, Rathbun).

Als Erreger des Wurzelbrandes der Nadelhölzer sind in der europäischen Literatur folgende Arten genannt worden:

Hartig (1883)

Hartig (1892, 1900)

Hartig (1900)

Rostrup (1895)

von Tubeuf (1902)

Neger (1910)

Lindfors (1922)

Sibilia (1925)

Dounin und Goldmacher (1926)

Sorauer (1928)

Burchard (1929)

Christoff (1933)

Phytophthora omnivora de By.

Fusarium-Arten

Rhizoctonia violacea Tul.

Fusarium-Art

Fusarium-Art (syn. Fusoma)

Phytophthora omnirora de By.

Fusarium-Arten Fusarium-Arten

rusurum-arten

Fusarium-Arten

Fusarium-Arten

Moniliopsis Klebahni Burch.

Pythium de Baryanum Hesse

Fusarium-Arten

Rhizoctonia solani Kühn (syn. Corți-

cium ragum B. et C.).

Zusammengefaßt beschränken sich die Erhebungen der europäischen Untersuchungen auf die Arten Pythium de Baryanum Hesse, Phytophthora omnivora de Bary und auf die Gattungen Fusarium und Rhizoctonia.

Unter Zugrundelegung ausgedehnter Isolierungsarbeiten weisen die wichtigsten Veröffentlichungen von Hartley, Merrill und Rhoads (1918), Hartley (1921) für die U.S.A. teilweise dieselben Arten nach, die von den europäischen Beobachtern festgestellt worden sind. Als wichtigste Parasiten, sowohl was die Häufigkeit des Vorkommens bei Wurzelbrandepidemien in Pflanzgärten, als auch die durch Infektionsversuche ermittelte unterschiedliche Stärke der Pathogenität anbetrifft, werden Pythium de Baryanum Hesse und Corticium ragum B. et C. (syn. Rhizoctonia.

solani Kühn) genannt. Geringere Bedeutung besitzen, namentlich in bezug auf die Pathogenität, die Fusarium-Arten, die sich durch stark verschiedene Virulenz auszeichnen. Festgestellt ist ferner das Vorkommen von Phytophthora-Arten und Botrytis cinerca Pers. Als Einzelisolierung mit beträchtlicher Pathogenität erscheint bei Hartley (1921) Rheosporangium aphanidermatus Edson. Duggar (1915) führt neben Corticium vagum B. et C. auch Rhizoctonia crocorum (DC.) Pers. (syn. Rhizoctonia violacea Tul.) als Erreger von "damping-off" an.

Es ist eine auffallende Tatsache, daß die bedeutendsten, in den U.S.A. festgestellten Erreger des Wurzelbrandes der Nadelhölzer in Europa als Parasiten anderer Wirtspflanzen schon lange und später wiederholt festgestellt worden sind | Pythium de Baryanum Hesse durch Hesse (1874), De Bary (1881): Rhizoctonia-Arten durch Du Hamel (1728), nach Peltier (1916) durch Kühn (1858) |. Der Umstand, daß Pythium de Baryanum als Erreger des Wurzelbrandes der Nadelhölzer vor 1933 nie und Rhizoctonia-Arten nur einmal (Hartig 1900) beobachtet wurden, legt die Vermutung nahe, daß diese gefährlichsten, aber weniger leicht isolierbaren und sichtbaren Arten durch die europäischen Beobachter übersehen wurden. Ihre Wirksamkeit wurde unzweifelhaft häufig den weniger pathogenen Fusarien zugeschrieben, die von Auge leichter sichtbar sind. Hartley (1921) stellt fest, daß er keine Phytophthora-Stämme ermitteln konnte, die so virulent sind, daß damit die von den europäischen Forschern festgestellten und Phytophthora zugeschriebenen Wurzelbrandschäden begründet werden könnten.

## 1. Kapitel. Beobachtungen an Freilandmaterial.

Die ersten Beobachtungen über das Auftreten von Wurzelbrand machten wir im Sommer 1930 in den Waldungen Lindberg der Stadt Winterthur (500 m ü. M.) anläßlich eines Versuches zur Ermittlung der bei der natürlichen Verjüngung der Fichte maßgebenden Umweltsfaktoren. Für das verständnisvolle Entgegenkommen bei der Durchführung dieses Versuches. der im Winter 1930/31 infolge schweren Sturmschadens abgebrochen werden mußte, sei auch an dieser Stelle der Stadtforstverwaltung Winterthur, insbesondere Herrn Forstmeister Lang, der beste Dank ausgesprochen. In einer großen, seinerzeit durch Windwurf entstandenen Lücke eines fast reinen, zirka 60 jährigen Fichtenbestandes waren in drei konzentrisch angeordneten Kreisen 92 Doppel-Versuchsflächen angelegt worden. Flächen des innersten Kreises befanden sich auf der Kahlfläche der Lücke, diejenigen des mittleren Kreises unter dem gelichteten Saum und die Flächen des äußersten Kreises unter dem geschlossenen Bestand. Doppel-Versuchsfläche bestand aus zwei kreisförmigen Flächen mit 80 cm Durchmesser: bei der einen war die lebende Bodendecke vor der Saat vorsichtig abgeschürft worden. Sämtliche Einzelflächen wurden durch ein

bis an die obere Kante in den Boden getriebenes Blechband von 12 cm Breite gegen außen abgeschlossen. Den Einfluß des umliegenden Altbestandes suchten wir durch Abstechen der Wurzeln bis in Spatentiefe möglichst auszuschalten.

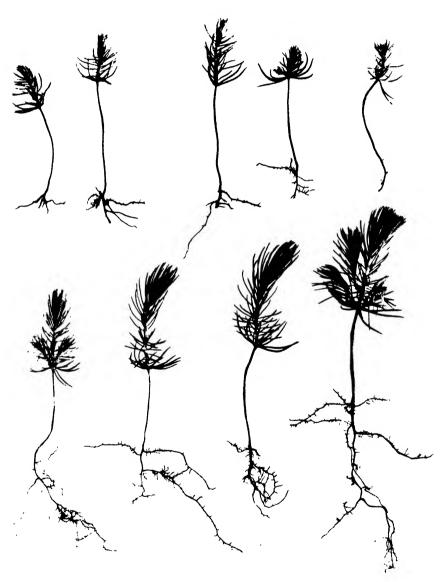


Abb. 1. Photo: Photograph. Institut der E.T.H. Später Wurzelbrand an einjährigen Fichtenkeimpflanzen aus einem Saatbeet des Pflanzgartens der Holzkorporation Zollikon bei Zürich (26. Mai 1931).

Obere Reihe: kranke Keimpflanzen mit zersetztem Wurzelwerk.

Untere Reihe: gesunde Keimpflanzen.

Anfangs September 1930 zeigte sich bei einem Teil dieser Versuchsflächen, die am 23. Mai mit einer bestimmten Menge Fichtensamen (*Picea excelsa* Link.) gleichmäßig übersät worden waren, eine auffallende Gelbfärbung der Keimnadeln zahlreicher Pflanzen. Die Untersuchung ergab als Ursache dieser Erscheinung eine zeitlich langsam fortschreitende, bei den Spitzen beginnende Zerstörung der Wurzeln, die oft das ganze Wurzelwerk bis knapp unter die Bodenoberfläche vernichtete (Abb. 1). Zahlreiche Isolierungen, durchgeführt nach der am Institut für spezielle Botanik der E. T. H. gebräuchlichen Methode, ergaben übereinstimmend als Ursache der Epidemie eine nicht näher bestimmte *Fusarium*-Art. Da sich der verwendete Fichtensamen bei zahlreichen Laboratoriumsversuchen als vollständig frei von pathogenen Pilzen erwies, muß angenommen werden, daß diese *Fusarium*-Art schon vor dem Versuch im Waldboden allgemein verbreitet war.

Besonders heftig war das Auftreten des Wurzelbrandes auf den Flächen des innersten Kreises (Freistand), deutlich schwächer auf denen des mittleren Kreises (Saum) und gar nicht zu beobachten auf den Flächen unter dem geschlossenen Bestand. Daraus ergibt sich, daß zwischen der Bestandesdichte und dem Auftreten des Wurzelbrandes eine gewisse Abhängigkeit besteht (Tabelle 1). Fast aus-

Tabelle 1. Versuchsflächen Lindberg bei Winterthur. Abhängigkeit der Befallsstärke von der Bestandesdichte (Aufnahme vom 14. Oktober 1930). Häufigkeit des Auftretens der verschiedenen Befallsgrade, in Prozent.

Befallsstärke		Bestandesdichte					
Grad	Freistand	Freistand/Saum	Saum	Bestand			
Befall schwer	46	25	11	0			
Befall mittel	45	50	15	0			
Befall vereinzelt	9	17	70	0			
Kein Befall	1 0	8	4	100			

nahmslos war die Infektion der Keimlinge nur auf Versuchsflächen zu beobachten, wo die ursprüngliche lebende Bodendecke bei der Saat entfernt worden war. Die Ursache dieser Erscheinung ist nicht aufgeklärt. Aus den vorhergehenden Angaben erhebt sich die Frage, welche Umstände bei der Entstehung der bedeutenden Unterschiede in der Befallsstärke der verschieden gelegenen Versuchsflächen ausschlaggebend mitwirkten. Im Laufe des Sommers 1930 hatte eine einmalige Bestimmung der Azidität (elektrometrische Messung; S. 24) der obersten Bodenschicht (0—5 cm Tiefe) durch Probeentnahmen in unmittelbarer Nähe der Versuchsflächen stattgefunden. Die Bestimmung des Wassergehaltes der Böden nach der von Burger (1922) ausgearbeiteten Methode mit Stahlzylindern war zweimal

(10. Juni und 1. September) durchgeführt worden: dagegen wurde von einer Ermittlung der Luft- und Wasserkapazität abgesehen. Aus der Gegenüberstellung von Befallsstärke und Wasserstoffionen-Konzentration der Versuchsflächen ergibt sich keine gesetzmäßige Abhängigkeit (Tabelle 2); dasselbe trifft für den Wassergehalt zu. Die Mittelwerte von Azidität und Wassergehalt sind vielmehr bei allen Befallsstärken annähernd gleich groß. Die Feststellung der für das Auftreten des Wurzelbrandes im vorliegenden Falle maßgebenden Umweltseinflüsse gelang somit nicht.

Tabelle 2. Versuchsflächen Lindberg bei Winterthur. Abhängigkeit der Befallsstärke von der Azidität und dem Wassergehalt des Bodens. Mittelwerte.

Befallsstärke Grad		lität H	Wassergehalt pro 1000 cm <sup>3</sup> Boden (Zylinderprobe) am 1. September 1930 cm <sup>3</sup>		
(1) au	Flächen im Freistand	Flächen unter Saum	Flächen im Freistand	Flächen unter Saum	
Befall schwer . Befall mittel Befall vereinzelt Kein Befall	4,98 + 0,16 $5,28 + 0,36$ $5,17 + 0,38$ $6,02 + 0,89$	$5,34 \pm 0,32$ $4,91 \pm 0,27$ $5,43 \pm 0,17$	$   \begin{array}{r}     392 \pm 24 \\     335 \pm 13 \\     341 \pm 12 \\     324 \pm 59   \end{array} $	385 ± 33 304 ± 19 305 ± 15	

Im Frühjahr 1931 stellten wir in zahlreichen Pflanzgärten der Ostschweiz (Zürichberg, Adlisberg und Zollikon bei Zürich; Neunkirch bei Schaffhausen) nachträglich fest, daß dieselbe Erkrankung von Fichtensaaten, die auf dem Lindberg bei Winterthur aufgetreten war, im Spätsommer 1930 auch hier teilweise bedeutende Schäden an Rillensaaten verursacht hatte. Obschon die verspätete Beobachtung bei den Isolierungsversuchen Schwierigkeiten bereitete, konnte doch an Hand von Keimlingsmaterial, das dem Pflanzgarten der Holzkorporation Zollikon bei Zürich entnommen wurde, nachgewiesen werden, daß der Befall durch dieselbe, auf Malzagarnährboden auffallend langsam wachsende Fusarium-Art hervorgerufen wurde. Vom Aufseher des Pflanzgartens der schweizerischen Zentralanstalt für das forstliche Versuchswesen auf dem Adlisberg bei Zürich wurde uns die Mitteilung gemacht, daß diese Art der Keimlingserkrankung dort seit zirka zehn Jahren nicht mehr beobachtet worden sei.

In allen bis dahin erwähnten Fällen, die in ihrem Wesen übereinstimmen, handelt es sich unzweifelhaft um den "späten Wurzelbrand" (3. Form unserer Übersicht).

Anfangs Juni 1931 zeigten die keimenden Nadelholzsaaten zahlreicher Pflanzgärten in der weiteren Umgebung von Zürich (Zürichberg, Adlisberg, Zollikon, Landforst bei Horgen) nach anfänglich normaler Keimung ausgedehnte, sehr schwere Wurzelbrandschäden. Dabei handelte es sich um den "normalen Wurzelbrand" (Abb. 2) (2. Form unserer

Übersicht). Vernichtet wurden Saaten von Fichte, Lärche, Bergföhre, Schwarzföhre und grüner Douglasie. Schon zwei Wochen vor dem Auftreten des Wurzelbrandes im Pflanzgarten Adlisberg (7. Juni) wurde im Pflanzgarten der Holzkorporation Zollikon ein vollständiges Versagen von Frühsaaten der Fichte festgestellt; auch im Adlisberg hatten einzelne Saaten große Keimverluste gezeigt. Ohne uns auf eine diesbezügliche Untersuchung stützen zu können, sei die Vermutung ausgesprochen, daß diese Keimverluste pilzparasitärer Natur waren (1. Form unserer Übersicht).



Abb. 2. Photo: Photograph. Institut der E.T.H. "Normaler" Wurzelbrand an 15 Tage alten Keimpflanzen. Die durch die Gewebezerstörung verursachte Einschnürung des Keimstengels hat das Umfallen des stehenden Keimlings zur Folge.

Aus einer Mitteilung von Bühler (1892, S. 34) kann mit einiger Wahrscheinlichkeit entnommen werden, daß schon im Jahre 1889 im Pflanzgarten Adlisberg Zerstörungen von Weißtannen-Keimpflanzen durch pathogene Pilze erfolgten. Dem Aufseher des Pflanzgartens verdanken wir die Mitteilung, daß eine ähnliche Wurzelbrandkatastrophe wie 1931 auch im Jahre 1907 vorkam. Der Förster der Korporation Landforst (Horgen) bestätigt für den dortigen Pflanzgarten häufiges Vorkommen des Wurzelbrandes in den vorangehenden Jahren.

Der für die später angeführten Laboratoriumsversuche verwendete Waldboden, der einem annähernd reinen, zirka 60-jährigen Fichtenbestand des Lehrreviers der Forstabteilung der E.T.H. (nördlich des Ütlibergs bei Zürich) entstammte (S. 15), enthielt ebenfalls Wurzelbranderreger. Auf nicht desinfiziertem Boden erfolgte an Fichtensaaten, die unter den später erwähnten normalen Versuchsbedingungen (8. 13-19) aufgezogen wurden, bei konstanter Temperatur von 24 ° C wenige Tage nach Austritt aus dem Boden Erkrankung eines Teils der Keimpflanzen durch Wurzelbrand. Eine Bestimmung der Parasiten wurde nicht durchgeführt. Der dem normalen Desinfektionsvorgang unterzogene Boden (S. 15) erwies sich bei allen Versuchen vollständig frei von pathogenen Pilzen. Die Annahme, daß Wurzelbrandparasiten nicht nur in forstlichen Pflanzgärten, sondern auch in natürlichen Waldböden vorkommen, wird ferner durch eine Beobachtung von Hartley, Merrill und Rhoads (1918, S. 525) gestützt, wonach Freisaaten von Nadelhölzern in Nord-Idaho, U.S.A., durch Wurzelbrand (Corticium ragum) stark geschädigt wurden.

Systematische Untersuchungen über die geographische Verbreitung und das Vorkommen der Wurzelbrandparasiten sind bis heute nicht durchgeführt worden. Auch im Programm der vorliegenden Arbeit konnten diesbezügliche gründliche Untersuchungen keine Aufnahme finden. Das gleichzeitige plötzliche Auftreten von Wurzelbrandepidemien in ausgedehnten Pflanzgärten und auch im Wald an weit voneinander entfernten Orten und nach mehrjährigem Unterbruch legt die Vermutung nahe, daß die Wurzelbranderreger in zahlreichen Böden ständig vorhanden sind. Ihre ausgesprochen polyphage und halbparasitische Lebensweise läßt diese Möglichkeit als verständlich erscheinen. Aus dem Nichtvorkommen der Erkrankung von Keimpflanzen an einem bestimmten Ort darf nicht ohne weiteres der Schluß abgeleitet werden, daß keine Wurzelbrandparasiten anwesend sind; denn die vegetative Entwicklung der Pilze und das Zustandekommen der Infektion sind, wie später nachgewiesen wird, an einen abgegrenzten Entwicklungszustand der Wirtspflanze und an bestimmte Umweltsverhältnisse gebunden.

Ein einzelner Versuch dient im Gegensatz zu den vorangehenden positiven Feststellungen über das Vorkommen von Wurzelbranderregern dazu, auf experimentellem Wege den Nachweis zu liefern, daß es Waldböden gibt, die keine pathogenen Pilze enthalten. Am 27. Dezember 1932 wurden einem an einen Schlagrand anstoßenden, annähernd reinen, zirka 70-jährigen Fichtenbestand der Waldungen Etzberg der Stadt Winterthur (zirka 550 m ü. M.), in dem sich die Fichte namentlich unter dem lichten Saum reichlich natürlich verjüngte, 39 Bodenproben entnommen. Auf einer Fläche von rund  $40\times80$  Meter wurden in verschiedenem Abstand vom Bestandessaum vier Probeserien ausgehoben. Sämtliche Proben entstammten der Bodenschicht von 0 bis 10 cm Tiefe. Trotz der unterschiedlichen Be-

standesdichte zeigten die Proben bei der Entnahme infolge der vorausgegangenen regnerischen Witterung und fast ständig bedecktem Himmel annähernd gleichmäßigen Wassergehalt. Die Proben wurden in sterilisierte dichte Stoffsäckehen verpackt und serienweise getrennt ins Laboratorium gebracht. Am selben Tag füllten wir eine bestimmte Menge aller noch naturfeuchten Proben in sterile Versuchsschalen (Größe 1) ab und beschickten diese mit Fichtensamen. Die Keimung fand im Thermostaten bei konstanter Temperatur von 23,9° C und unter ständiger Einhaltung des ursprünglichen Wassergehaltes der Bodenproben statt. Vom Austritt aus dem Boden an wurden die Saaten künstlich belichtet. Dieselbe Versuchsanordnung wurde in den späteren Keim- und Infektionsversuchen verwendet (8.14--19). Während der ganzen Versuchsdauer von 22 Tagen trat bei keiner der 39 Kulturen Wurzelbrand auf. Die Proben besaßen im frischen Zustande Säuregrade von pH 5,66 bis 7,47, eine Wasserkapazität des Naturbodens von 44,4 bis 52,4% und eine Luftkapazität von 5,0 bis 13,3%. Die physikalischen Untersuchungen hatten im vorangehenden Sommer nach der von Burger (1922) ausgearbeiteten Methode mit Bodenzylindern stattgefunden. Die oben gemachten Angaben und die Beobachtungen im Walde lassen den Schluß zu, daß die vorliegenden Böden keine extremen Eigenschaften besitzen, die bei Anwesenheit von Wurzelbranderregern den Befall unmöglich gemacht hätten. Tatsächlich ergab die künstliche Flächeninfizierung (S. 43) mit dem Stamm Pythium de Baryanum Nr. 5 (S. 30) bei allen bis dahin gesunden Kulturen starken Befall. Damit ist der Nachweis erbracht, daß die untersuchte Waldfläche auf dem Etzberg keine für die Fichte pathogenen Mikroorganismen enthielt.

Die Isolierung der Erreger, die im Frühjahr 1931 in der weiteren Umgebung von Zürich die schweren Wurzelbrandschäden verursacht hatten, ergab auffallenderweise meist nicht Reinkulturen eines Pilzes, sondern Mischkulturen von Pythium de Baryanum Hesse, zahlreichen Fusarium-Arten und Cortieium vagum B. et C. Ausgehend von der Überlegung, daß Reinkulturen von ganz frisch befallenen Keimpflanzen sicherer gewonnen werden können, wurden Bodenproben samt befallenem Keimlingsmaterial aus den infizierten Beeten der verschiedenen Pflanzgärten in sterilen Blechbüchsen ins Laboratorium gebracht. Diese Erde wurde in sterilisierte flache Tonschalen eingefüllt, mit Fichtensamen beschickt, angefeuchtet und mit einer Glasplatte zugedeckt. Die Saaten wurden zur Keimung in Thermostaten von 24 und 27° C. gestellt. Von den befallenen Keimpflanzen konnten im richtigen Augenblick Reinkulturen mit Leichtigkeit erhalten werden.

Da die vorliegende Arbeit nur die Abklärung biologischer Fragen zum Ziele hat, beschränken wir uns auf die Nennung der wichtigsten, aus befallenen Nadelholzkeimlingen isolierten und für die späteren Versuche verwendeten Arten. Es sind dies:

- 1. Pythium de Baryanum Hesse, Stämme Nr. 5 und 21,
- 2. Fusarium bulbigenum C. et M. v. blasticola Rostr. (syn. Fusarium blasticola Rostr.), Stamm Nr. 72,
- 3. Corticium vagum B. et C. (syn. Rhizoctonia solani Kühn), Stämme Nr. 20, 32 und 35.

Die morphologischen, physiologischen und biologischen Eigenschaften der einzelnen Parasiten finden außer in einem Teil der zitierten eigentlichen Wurzelbrand-Literatur in einigen weiteren Arbeiten besondere Würdigung. Für Pythium de Baryanum wird auf De Bary (1881), Sorauer (1908, 1928), Hawkins und Harvey (1919) und Gäumann (1926) verwiesen; für Fusarium auf Appel und Wollenweber (1910), Wollenweber (1913) und Sorauer (1928). Angaben über Corticium vagum machen Duggar (1915), Peltier (1916), Gäumann (1926) und Sorauer (1928).

Zusammenfassend ist hervorzuheben, daß die genannten wichtigsten Erreger des Wurzelbrandes der Nadelhölzer einerseits grundverschiedene Abstammung und verschiedene morphologische Eigenschaften haben, andererseits aber in ihrem biologischen Verhalten wichtige Übereinstimmungen zeigen. Sie alle sind halbparasitische, polyphage Bodenbewohner, die ganz allgemeine Verbreitung besitzen. Ihr Saprophytismus ermöglicht die Züchtung in Reinkultur auf künstlichen Nährböden und damit die experimentelle Feststellung wichtiger biologischer Eigenschaften.

## 2. Kapitel.

#### Die Laboratoriumsversuche.

Die folgenden Untersuchungen befassen sich nur mit den beiden ersten Formen des Wurzelbrandes, der an keimenden Samen und an wenige Wochen alten Keimpflanzen der Nadelhölzer auftritt (Formen 1 und 2 unserer Übersicht). Keine weitere Berücksichtigung findet der "späte Wurzelbrand" (Form 3) (Gifford, 1911, Hartley, Merrill und Rhoads, 1918, Rathbun, 1922). Zeit und Raum erforderten bei der Durchführung der Versuche Beschränkung auf einen einzigen Wirt (Fichte), auf sechs Parasiten (je zwei derselben Art oder Gattung angehörend) und auf die Abklärung der wichtigsten biologischen Fragestellungen.

Eine Abklärung der einzelnen biologischen Fragen, denen beim Befall der Wirtspflanze durch den Parasiten Bedeutung zukommt, ist notwendig, um einen Einblick in die allgemeinen biologischen Zusammenhänge zu gewinnen. Da Feldversuche ausnahmslos dem gleichzeitigen Einfluß zahlreicher, während der Versuchsdauer stets wechselnder Umweltsfaktoren unterliegen, mußte das Schwergewicht der vorliegenden Arbeit auf Laboratoriumsversuche verlegt werden. Sämtliche Serien eines Versuches wurden, um zuverlässige Mittelwerte zu erhalten, in Übereinstimmung mit den Erfordernissen der Wahrscheinlichkeitsrechnung, grund-

sätzlich in zehnfacher Wiederholung durchgeführt. Infolge Raummangels war bei einem Teil der Versuche nur achtfache Wiederholung möglich. Auch in diesem Fall stellt jedoch die Größe der mittleren Abweichung der einzelnen arithmetischen Mittelwerte den Ausdruck der Schwankungen dar, die durch die Veränderlichkeit der Einzelresultate verursacht sind. Aus den Abweichungen der Einzelresultate jeder Versuchsserie wurde die mittlere Abweichung

nach der Formel  $m = \sqrt{\frac{\Sigma a^2}{n \cdot (n-1)}}$  berechnet, wobei  $\Sigma a^2$  die Summe der Quadrate der Einzelabweichungen vom Mittelwert und n die Anzahl der Wiederholungen bedeutet. Der Unterschied D zweier Mittelwerte gilt dann als gesichert, wenn D  $\rightarrow 3 \cdot |m_1|^2 + m_2^2$  ist; dabei sind  $m_1$  und  $m_2$  die mittleren Abweichungen der Einzelwerte.

Grundbedingung für die einwandfreie Abklärung der Wirksamkeit eines einzelnen Einflußfaktors durch einen Versuch ist die strenge Konstanthaltung aller andern Einflüsse. Ein ganzer Versuch, umfassend eine Anzahl Versuchsserien, gelangte immer gleichzeitig zur Durchführung.

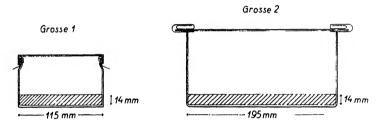


Abb. 3.

Querschuitt durch die für die Versuche verwendeten Glasschalen.

Kleine Schale. 150 g lufttrockener Boden 50 cm³ destilliertes Wasser

50 Fichtensamen

Große Schale. 450 g lufttrockener Boden 150 cm³ destilliertes Wasser 1.55 g Fichtensamen (zirka 200 Stück)

Sämtliche Keim- und Infektionsversuche wurden in klar durchsichtigen Glasschalen von kreisrunder Form durchgeführt. Zur Verwendung kamen zwei Schalengrößen, die grundsätzlich verschiedene Versuchsaufgaben zu erfüllen hatten. Durch Zwischenschaltung von kurzen Drahtstücken oder Klammern aus 1 mm starkem Draht wurden die Schalendeckel um diese Höhe abgehoben. Dadurch war ein beschränkter Luftaustausch zwischen dem Schaleninnern und dem Außenraum möglich. Aus Abb. 3 und den an ihrem Fuß befindlichen Angaben sind die normalen Versuchsverhältnisse in bezug auf Boden-, Wasser- und Samenmengen der beiden Schalengrößen ersichtlich. Die Erdschicht besaß eine mittlere Stärke von 14 mm. Die Überdeckung des Fichtensamens betrug 1 bis 2 mm. Die Saat erfolgte so weitliegend, daß sich die ausgewachsenen Keimpflanzen normalerweise nicht berührten. In den kleinen Schalen fand gelegentlich

eine Berührung der Keimnadeln mit dem Deckel statt. Eine dadurch bewirkte Störung des Versuches konnte aber nicht beobachtet werden.

Für alle Keim- und Wachstumsversuche wurde derselbe Versuchsboden verwendet. Dieser hatte als Grundlage einen Naturboden, der durch bestimmte Behandlung in den für die Versuche brauchbaren Zustand versetzt worden war. Es gelang uns, im Lehrrevier der Forstabteilung der E.T.H., das auf dem flachen Rücken der Albiskette nördlich des Ütlibergs gelegen ist, einen Boden zu finden, der die für die späteren Versuche geforderten Eigenschaften besitzt. Dabei handelt es sich um einen guten Waldboden mit sehr geringem Humusgehalt aus einem zirka 60 jährigen, fast reinen, gleichaltrigen Fichtenbestand. Bis in die verwendete Tiefe von 30 cm zeigte der Boden keine von Auge sichtbare Schichtung. Den geologischen Untergrund bildet die obere Süßwassermolasse, die aber von Moränenmaterial des Linth- und Reußgletschers stark überlagert ist. Dieser Naturboden erfuhr folgende Behandlung: 6 kg annähernd lufttrockener, grob gesiebter Rohboden wurden in einem glasierten Steinguttrog mit rund 2,1 Liter Leitungswasser unter Zusatz von 10 cm<sup>3</sup> gesättigter Formaldehyd-Lösung angefeuchtet, gut vermischt und bedeckt zwei Tage stehen gelassen. Dadurch wurden allfällig im Boden vorhandene Lebewesen, vor allem pathogene Pilze, abgetötet. Die Trocknung erfolgte bei maximal 50 °C auf Drahtgittern im Trockenschrank, wobei auch der Formaldehydzusatz verdampfte. Der lufttrockene Boden wurde zerstampft und war nach Siebung (3 mm) versuchsbereit. Eine weitergehende Behandlung erfuhren nur die zu Aziditäts-Versuchen verwendeten Böden. Die genaue Beschreibung der chemischen Eigenschaften des normalen Versuchsbodens findet sich in Abschnitt C (S. 23-27).

Die Schlämmanalyse des versuchsbereiten Bodens im Schlämmapparat nach Kopecky (Wiegner 1926) ergab die in Tabelle 3 angegebenen Fraktionen.

Tabelle 3. Schlämmanalyse des normalen Versuchsbodens.

Fraktion	Teilchengröße mm	Masse in Prozent   der Feinerde	
Abschlämmbare Bestandteile Staubsand Feinsand Grobsand	unter 0,01 0,01 0,05 0,05 0,10 0,10 0,20	38,69 21,15 13,56 26,60	

Nach Diserens-Wiegner (Klassifizierung der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchsanstalten) ist dieser Boden somit als "toniger Lehm" zu klassifizieren. Die Bestimmung der Wasser- und Luftkapazität erfolgte in Anlehnung an Burger (1922) in der Weise, daß der lufttrockene Versuchsboden ohne Druck in 1000 cm³-Stahlzylinder eingefüllt wurde. Es folgte dann das allgemein übliche Verfahren, das Burger sonst

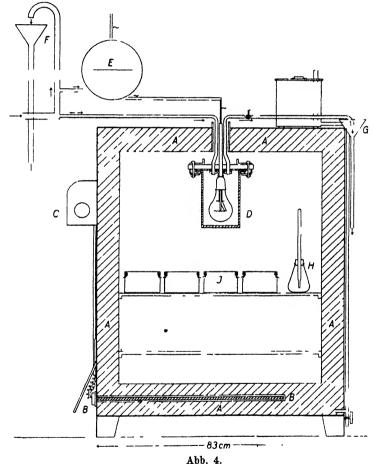
bei Naturböden anwendet. Drei Parallelbestimmungen ergaben eine mittlere Wasserkapazität von  $51.5 \pm 0.4$  %, eine Luftkapazität von  $5.6 \pm 0.4$  % bei einem Bodengewicht (lufttrocken) von 1112 g pro 1000 cm³ Gesamtvolumen.

Sämtliche Versuchsschalen waren numeriert und tariert. Durch regelmäßig vorgenommene Wägungen und Ergänzung des verdunsteten Wassers wurde ein ständig gleichbleibender Wassergehalt des Bodens (72%) der absoluten Wasserkapazität) gewährleistet.

Die Bedeckung der Schalen hatte den Zweck, die Versuche gegen unerwünschte Einflüsse von außen zu schützen, die Verdunstung des Wassers aus dem Boden möglichst abzuschwächen und eine konstante Luftfeuchtigkeit im Innern der Schalen zu erhalten. Da nur ein kleiner Spalt den Luftaustausch mit dem Außenraum gestattete, war die Luft im Innern der Schalen auch bei hohen Temperaturen annähernd wassergesättigt.

Als weitere grundlegende Versuchsbedingung ist die Innehaltung einer bestimmten gleichbleibenden Temperatur während der ganzen Versuchsdauer zu nennen. Für Versuche mit landwirtschaftlichen Kulturpflanzen wird gelegentlich die Topfkultur in Thermostatentrögen (mit Wasserbad von bestimmter Temperatur) verwendet. Sie hat aber den Nachteil, daß die Temperatur der obersten Bodenschicht infolge Ein- und Ausstrahlung stark von den Umweltsverhältnissen abhängig ist; nicht zu vermeiden ist dabei auch ein ständiger Wechsel der Lufttemperatur. Dieses Versuchsverfahren ist zur Durchführung von Keim- und Infektionsversuchen mit Nadelhölzern nicht geeignet, da diese in der obersten Bodenschicht keimen und wurzeln, also gerade dort, wo der Fehler bei Topfkulturen am größten ist. Infolgedessen kam für die vorliegenden Versuche nur die Verwendung von geschlossenen Thermostatenschränken und Thermostatenräumen in Frage. In diesen sind Boden- und Lufttemperatur gleich und konstant. Die selbttätige Temperaturregulierung erfolgt mittels Kontaktthermometer, Umschaltrelais und Heizwiderständen. Benutzt wurden hölzerne Thermostatenschränke mit Asbestauskleidung. die ihrerseits in einem Thermostatenraum mit ähnlicher Temperatur standen. Bei diesen Thermostaten, die nicht für genaue Temperaturuntersuchungen verwendet wurden, erfolgte unmittelbare Regulierung der Lufttemperatur. Die exakten Temperaturuntersuchungen wurden in Aluminium-Thermostatenschränken mit fünfseitig umgebendem Wassermantel von konstanter Temperatur durchgeführt (Abb. 4). Im Keller des Versuchshauses des Institutes für spezielle Botanik der E.T.H. befinden sich 13 solche Thermostatenschränke mit konstanten Temperaturen von 0 bis 36 °C; der normale Temperaturabstand von Schrank zu Schrank betrug 3 °C, die maximale Temperaturschwankung ± 0,5 °C. Die Thermostaten mit einer Temperatur unter 18°C stehen in Kühlräumen. Sowohl in den Räumen als auch in den Thermostaten fand bei den täglichen Besichtigungen ein selbsttätiger Luftaustausch statt.

In geschlossenen Thermostaten sind Keim- und Infektionsversuche mit Samen möglich, nicht aber länger dauernde Versuche mit Keimpflanzen, für die der an das Licht gebundene Assimilationsvorgang Lebensbedingung ist. Die Assimilation ist an einen bestimmten Spektralbereich der sichtbaren Lichtstrahlen gebunden. Die Lichtbeschaffung durch Verwendung genügend starker elektrischer Lichtquellen mit hoher Glühtemperatur kann als annähernd vollwertiger Ersatz des natürlichen Sonnenlichtes betrachtet werden. Der Einbau einer starken elektrischen Lampe im Thermostaten



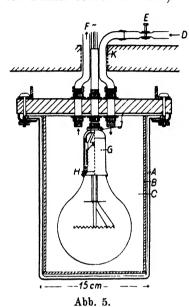
Querschnitt durch Thermostatenschrank aus Aluminium, mit Wassermantel, benützt für genaue Temperaturuntersuchungen.

Warmestrahlungsfreie Belichtung der Kulturen.

A = Wassermantel. B = Kontaktthermometer und Heizwiderstände (hintereinanderliegend)
C = Umschaltrelais. D = Wassergekühlte Lampe mit Lichtfilter. E = Kippschalter.

F = Druckregler für Kühlwasserzufluß. G = Nicht-saugender Abfluß für Kühlwasser. H = Thermometer. J = Kulturen.

bedingt aber selbst bei intensivster Kühlung derselben durch einen allseitig umgebenden Wässermantel mit stetiger Wasserzirkulation in kurzer Zeit eine starke Temperaturerhöhung des Raumes (Abb. 5). Zur Absorption der unerwünschten Wärmestrahlen, die den Kühlmantel durchdringen, wurde in diesem ein Lichtfilter aus Eisenoxydul-Glas eingeschaltet (Handelsprodukt der Firma Schott in Jena). Die zur Assimilation notwendigen Teile des



Querschnitt durch wärmestrahlungsfreie Lampe für die Belichtung der Kulturen in den Thermostatenschränken.

A = Glasglocke. B = Lichtfilter aus Eisenoxydulglas. C = Wasser-Kühlmantel. D = Wasserzufluß. E = Quetschhahn für Wasserzuflußregulierung. F = Kühlwasserabfluß. G = Bacolitfassung. H = Dichtung aus Kabelmasse. I = Gummidichtung. K = Watteabschluß.

Spektrums werden vom Lichtfilter durchgelassen. Auf diese Weise ist es möglich, im Innern der Thermostaten bei beliebiger Temperatur starke Lichtquellen aufzustellen. ohne daß die Raumtemperatur in ihrer Beständigkeit gestört wird. Als Glühkörper wurden 250 Watt-Speziallampen mit kleinem Glaskörper und langer Brenndauer verwendet. Für die Schaffung wirklich konstanter Temperaturverhältnisse ist Übereinstimmung der Temperatur des Kühlwassermantels der Lampe mit der Thermostatentemperatur erforderlich. Diese Bedingung wird erfüllt durch Regulierung der Geschwindigkeit des Kühlwasserzuflusses mittels Quetschhahn an der Zuleitung, Selbstverständlich muß die Temperatur des Kühlwassers unter derjenigen der Thermostaten liegen. Um gleichbleibenden Niederdruck in der Kühlwasserzuleitung zu erzielen, ist die Vorschaltung eines Überlaufrohres oder Reservoirs notwendig (Abb. 4). Saugwirkung an den Ableitungen wird durch Zwischenschaltung von offenen Ausläufen unmittelbar außerhalb der Thermostaten vermieden. Zur Sicherung der ganzen Anlage gegen Überhitzung der Lampen bei Aussetzen des Wasserzuflusses wurde die gemeinsame Stromzuleitung durch einen selbsttätigen

Quecksilber-Kippschalter geleitet. Der Ansatz von Algenkolonien im Innern der Lampen-Kühlmäntel wurde durch eine alle zwei Wochen erfolgende Einspritzung mit Formalin- oder Sublimatlösung verhindert. Die Belichtung sämtlicher Thermostatenschränke und -räume erfolgte mit einer oder mehreren dieser genau gleiche Lichtmengen liefernden Lampen. Aus versuchstechnischen Gründen und um zugleich einem möglichen Lichtmangel sicher vorzubeugen, wurde bei allen Versuchen die Beleuchtung vom Moment des Austrittes der Keimpflanzen aus dem Boden bis zum Versuchsabbruch in

ständigem Betrieb gehalten. Unter diesen Verhältnissen zeigten die Keimpflanzen selbst bei Versuchsdauern von zweieinhalb Monaten normale Entwicklung wie im Freiland.

Aus den obenstehenden Darlegungen ergibt sich, daß die für die Durchführung der Versuche geforderte Beständigkeit und Gleichheit der Eigenschaften des Bodens, des Wassergehaltes und der Temperatur von Boden und Luft sowie des Lichtes gewährleistet ist. Die Art der Veränderung der einzelnen Umweltfaktoren zur Überprüfung ihres Einflusses auf die Keimung oder auf den Infektionsvorgang ist aus den späteren Versuchsanordnungen ersichtlich.

#### 1. Der Wirt.

#### A. Allgemeines.

Als einzige Wirtspflanze wird in den folgenden Versuchen die Fichte (Picea excelsa Link, syn. Picea abies Karsten) verwendet. Der Grund dieser Wahl ist einerseits in der notwendigen Beschränkung des Arbeitsstoffes zu suchen und andererseits auf die vorherrschende Stellung dieser Art unter unseren einheimischen Nadelhölzern zurückzuführen. In der europäischen Literatur (Büttner 1903, Neger und Büttner 1907) wird die Fichte als eine der Holzarten aufgeführt, die unter Wurzelbrand verhältnismäßig wenig leidet, also offenbar bedeutende Widerstandsfähigkeit gegenüber den Angriffen der Wurzelbranderreger besitzt. Zuverlässige experimentelle Untersuchungen bestehen indessen nicht.

Für alle in vorliegender Arbeit durchgeführten Versuche wurde derselbe Fichtensamen verwendet. Er stammt aus dem Samenjahr 1929 und wurde aus Zapfen geklengt, die im Staatswald Hard bei Eiken (Kanton Aargau), 380 m ü. M., gesammelt worden waren.

## B. Der Einfluß der Temperatur auf den Wirt.

Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur auf die Keimung der Fichte hat Mork (1933) veröffentlicht. Die Arbeit umfaßt Keimversuche mit Samen von zwei verschiedenen norwegischen Herkünften. Sie wurden in mit Quarzsand überdecktem Humusboden bei konstanter Temperatur in Thermostaten durchgeführt. Die minimale Keimtemperatur liegt nach Mork bei 8° bzw. 10° C; die maximale Keimtemperatur befindet sich etwas oberhalb 30° C. Das Keimungsoptimum in bezug auf den Keimerfolg ("/0) wird bei 14 bis 20° bzw. 22° C festgestellt. In bezug auf die Keimungsgeschwindigkeit schafft die Temperatur von 22° C optimale Bedingungen.

Einen ähnlichen Versuch zur Abklärung des Einflusses der Temperatur auf die Keimung der Fichte führten wir 1931 in gedeckten Kristallisierschalen durch. Pro Schale wurden je 50 Samen auf mit destilliertem.

Tabelle 4.

Der Einfluß der Temperatur auf die Keimung der Fichte. Keimung auf Filtrierpapier in Kristaliisierschalen. Keimerfolg in Prozent der Samenzahl.

Anzahl der Tage					Temper	atur °C	;			
nach der Aussaat	6,0	8,8	11,4	14,9	18,2	21,0	24,1	26,9	29,6	88,0
5	_	_			_		0,2	1,2	0,6	0,2
6 7		_	_			0,2	8,0	10,2	2,0	0,2
7		_		i —	_	11,4	37,4	34,6	9,6	0,2 0,4
8	-	_	_		_	52,2	66,6	61,0	17,8	0,6
9	_	_	_		28,8	80,0	78,6	72.8	25,8	0,6 0,6 2,8
10				1,2	64,0	86,4	82,8	81,6	35,2	2,8
11		_		7,4	78,8	88,6	84,6	83,4	42.6	4.0
12	_	i —	_	29,8	83,6	89,6	85,6	84,6	49,6	5,4 5,6
18	-	_		54.2	85,8	90,0			52,8	5,6
14				68,2	86,6				56,8	
15		_	_	75,8	87,2			_	61,6	
16			0,4	78,2	87,6				64,4	
17			1,8	80,4			_	_		
18	_		7,0	81,6					_	
19	_		12,6	82.8						
20	_	_	21,4	83,8	_			_	1	
21			30,8	84,4	_				=	
22	_		46,0	84,6	_	_				
23			57,0	85,0					_	
24			65,2			_				
25			70,2		_	l			_	
26			74,2				_ _ _ _		-	
27	l	0,8	77,0	=	_		l _	_		
28	_	1,6	79,2		_	_	l			_
29 29	_	2,8	80,6	_	_	_				
30		5,6	81,8		_ 1	_		_		
81		8,0	82,6							
32		16,4	83,6		_					
32 38	_	20,2	83,6	_						
34	_	24,4	84,2			_				
35	_	29,0	84,2					_	_	
36 36		34.2	84,4		_	=				
87	_	38,4	04,4	_			_	_		_
88	_	41,2			_				_ _ _	
39	_	45,2	_	_						
40	_	48.0	_	_	_	=		=	_	
41		50,0	_	_					_	
42	_	52,2	_	_	_	_	_	_	_	
42 43		52,2		_		_	_	_	_	-
45 44		53,8	-	_	_	. —	- - - -	-	_	
44		55,0						_	_	-
52	2,0	57,0	-			-	-	-	-	_
60	3.0	58,0	_		_		-	-	_	_
<b>6</b> 8	4,0	59,4						_	_	

sterilisierten Wasser angefeuchtetem Filtrierpapier zur Keimung gebracht. Jede Temperaturserie umfaßte zehn Schalen. Die Auszählung der Keimlinge erfolgte in dem Augenblick, wo die Keimwurzel 1 cm Länge erreicht hatte. Die Resultate des Versuches sind in den Tabellen 4 und 5 und Abb. 6 und 7 enthalten. Die tiefste Temperatur, bei der nur noch ein geringer Prozentsatz der Fichtensamen keimt, beträgt 6°C; als höchste

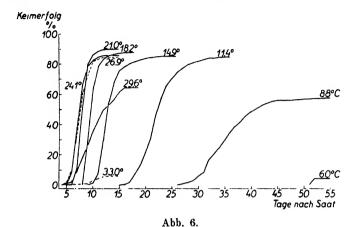
	Dot 2:1222 doi 14:12-poi atali da di di mang doi 1:0100							
Temperatur		Keimung auf ier in Kristall te Keimzeit 76	isierschalen	Keimung in Versuchsboden Längste Keimzeit 78 Tage				
	Keimerfolg	Keir	nzeit	Keim	Keimlings- länge			
	In Prozent der Samenzahl  Samenzahl  Anzahl der Streuung des Keimling keimungs- von 1 cm erreicht hat der Tage		Total in Prozent der Samenzahl	Keimlinge mit über 3 cm Größe, in Prozent der Samenzahl	Länge von Wurzel + Keimstengel nach 52 Tagen mm			
3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33	$\begin{array}{c} 0.0 \pm 0.0 \\ 4.0 \pm 1.2 \\ 59.4 \pm 2.6 \\ 84.4 \pm 0.6 \\ 85.0 \pm 1.8 \\ 87.6 \pm 1.6 \\ 90.0 \pm 1.0 \\ 85.6 \pm 1.6 \\ 84.6 \pm 1.0 \\ 64.4 \pm 3.4 \\ 5.6 \pm 1.2 \\ 0.0 \pm 0.0 \\ \end{array}$	60,0 37,1 28,8 13,4 10,0 8,5 7,8 8,0 10,5 (11,2)	42 21 14 8 8 8 8 12 (9)	$\begin{array}{c} 0.0 \pm 0.0 \\ 0.0 \pm 0.0 \\ 0.0 \pm 0.0 \\ 43.0 \pm 8.6 \\ 67.0 \pm 5.4 \\ 92.4 \pm 1.6 \\ 93.0 \pm 1.2 \\ 92.4 \pm 4.2 \\ 92.2 \pm 0.8 \\ 86.4 \pm 3.0 \\ 64.0 \pm 4.6 \\ 0.0 \pm 0.0 \\ 0.0 \pm 0.0 \\ \end{array}$	$\begin{array}{c} 0.0 \pm 0.0 \\ 0.0 \pm 0.0 \\ 31.0 \pm 6.4 \\ 64.4 \pm 3.8 \\ 90.6 \pm 1.8 \\ 89.0 \pm 1.4 \\ 87.0 \pm 4.6 \\ 87.4 \pm 2.8 \\ 82.0 \pm 3.2 \\ 43.6 \pm 3.0 \\ 0.0 \pm 0.0 \\ 0.0 \pm 0.0 \\ \end{array}$	$\begin{array}{c} -13,5\pm1,7\\ 36,8\pm1,7\\ 42,7\pm1,9\\ 50,0\pm1,9\\ 51,6\pm2,2\\ 49,1\pm3,2\\ 40,1\pm2,2\\ 7,6\pm0,7\\ -\end{array}$		

Tabelle 5. Der Einfluß der Temperatur auf die Keimung der Fichte.

Keimtemperatur sind 33°C zu nennen. Diese Maximaltemperatur bewirkt aber an Samen und Keimwurzeln deutliche Degenerationserscheinungen. Das Temperaturoptimum inbezug auf die Keimungsgeschwindigkeit verschiebt sich während des Keimungsvorganges von 27 nach 24°C. Das Keimungsoptimum inbezug auf den Keimerfolg (°/0) befindet sich bei 21°C; infolge der Größe der mittleren Abweichungen ist dessen Lage aber nicht gesichert. Die Temperaturspanne mit hohem Keimprozent ist sehr weit; bei über 94°/0 Keimung (inbezug auf maximale Keimzahl) erstreckt sie sich von rund 12—27°C. Mit sinkender Temperatur findet indessen schon von 21°C (Optimum) an ein rascher Anstieg der Keimdauer statt.

Zu Vergleichszwecken sind in Tabelle 5 und Abb. 8 die Resultate späterer Keimversuche enthalten, die unter anderen Versuchsbedingungen durchgeführt wurden. Statt auf Filtrierpapier keimten die Fichtensamen im normalen Versuchsboden bei konstantem Wassergehalt. Festgestellt wurde die Anzahl der über Boden erschienenen Keimpflanzen und die Zahl der Keimlinge, die eine Höhe von 3 cm über Boden erreichten. Die Gegenüberstellung der beiden Keimversuche ergibt eine scheinbare Verlagerung des Optimums des zweiten Versuches nach 18°C; sie ist jedoch nicht gesichert. Während im optimalen Keimbereich der Keimerfolg (%) des Versuches im Boden allgemein etwas höher ist, zeigt sich die umge-

kehrte Erscheinung in ausgeprägterem Maße bei den unteroptimalen Temperaturen. Im Gegensatz zum Keimversuch auf Filtrierpapier erfolgt beim Versuch in Boden mit einer Temperatur von 33°C keine Keimung



Einfluß der Temperatur auf die Keimung der Fichte.

Keimversuch durchgeführt auf Filtrierpapier in Kristallisierschalen.

Keimerfolg in Prozenten der Samenzahl.

mehr, sodaß das Keimungsmaximum hier auf 30°C herabgesetzt wird. Die Feststellung der Gesamtlänge (Wurzel + Keimstengel) der Keim-

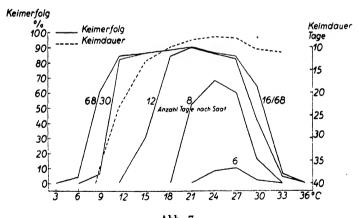


Abb. 7.

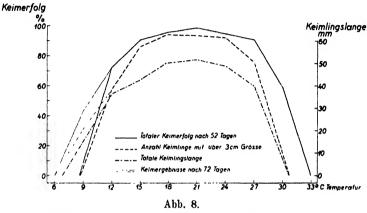
Einfluß der Temperatur auf die Keimung der Fichte. Keimversuch durchgeführt auf Filtrierpapier in Kristallisierschalen. Keimerfolg in Prozenten der Samenzahl. Mittlere Zeitdauer bis die Keimlinge 1 cm Länge erreicht haben.

pflanzen im Alter von 52 Tagen (Abb. 5) läßt erkennen, daß der Temperaturraum für die optimale Entwicklung der Fichte eindeutig zwischen 18 und 24° C liegt (nicht gesichertes Optimum: 21°C).

#### C. Der Einfluß

der Wasserstoffionen-Konzentration des Bodens auf den Wirt.

Aaltonen (1925) und Schmidt (1927) versuchten durch einfache Variation der Azidität der Keim- und Nährlösungen den Einfluß der Wasserstoffionen-Konzentration auf die Keimung und die Entwicklung der Keimpflanzen festzulegen. Nach Aaltonen liegt das nicht eindeutig gesicherte Keimungsoptimum der Fichte in der Nähe des Säurewertes pH 5,0,



Einfluß der Temperatur auf die Keimung der Fichte. Keimung in Versuchsboden. Versuchsdauer 52 bzw. 72 Tage. Keimerfolg in Prozenten der Samenzahl und totale Keimlingslänge (Keimstengel + Wurzel)

nach Schmidt bei pH·5,4—6,3. Die Minimal- und Maximalgrenzen der für die Keimung der Fichte zulässigen Säurekonzentrationen ermittelte Schmidt außerhalb der Werte pH 8,5 und 2,5. Die Versuche sind indessen auf zu schmaler Basis angelegt, um daraus bindende Schlüsse ziehen zu können.

Aus versuchstechnischen Gründen mußten wir ein anderes Untersuchungsverfahren anwenden. Der Erdboden stellt unzweifelhaft das natürlichste Keimbett dar, da sich der Keimling unter naturgemäßen Verhältnissen entwickeln kann. Es wäre möglich, einen Keimversuch zur Abklärung der Säurefrage unter Verwendung zahlreicher Naturböden mit verschiedener Azidität durchzuführen. Dabei müßte aber der große Nachteil in Kauf genommen werden, von Grund aus in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften verschiedene Böden verwenden zu müssen. Es scheint deshalb zweckmäßiger, von ein und demselben Boden als Grundlage auszugehen und bei diesem die Wasserstoffionen-Konzentration zu verändern. Selbstverständlich wird die Veränderung des Säuregrades von einer ganzen Reihe von chemischen und physikalischen Umlägerungen begleitet, die unmittelbar damit zusammenhängen. Albrecht und Jenny (1931) haben an Hand von Versuchen mit künstlichen Tonböden-

nachgewiesen, daß die Azidität eines Bodens nicht eine für die Entwicklung der Pflanze unbedingt maßgebende Größe darstellt, sondern daß die den Pflanzen im Boden wirklich zur Verfügung stehenden Mengen bestimmter lebenswichtiger Stoffe ausschlaggebende Bedeutung besitzen. Wenn derselbe Boden als Ausgangsgrundlage für die Herstellung einer Bodenserie mit verschiedener Azidität benützt wird, kann aus der Wasserstoffionen-Konzentration der einzelnen Böden auf das mengenmäßige Vorkommen anderer Kationen (z. B. Ca) geschlossen werden.

Aus den oben dargelegten Gründen scheint die Herstellung einer Bodenserie mit verschiedener Azidität durch Veränderung desselben Ausgangsbodens am zweckmäßigsten. Bei der Wahl des Versuchsbodens (S. 15) war maßgebend, daß dieser Boden sowohl gegen Veränderungen nach der sauren als auch nach der basischen Seite des ursprünglichen Säuregrades keine starke Pufferung aufwies, die eine Veränderung der Wasserstoffionen-Konzentration stark erschwert hätte. Sämtliche in dieser Arbeit ausgeführten Säurebestimmungen erfolgten auf elektrometrischem Wege (Chinhydronelektrode) nach dem Kompensationsverfahren nach Poggendorf (Pallmann, 1930). Im Gegensatz zur kolorimetrischen Meßmethode, die nur die Zahl der gänzlich freien Wasserstoffionen mißt, ermittelt die elektrometrische Methode auch die teilweise an den Bodenteilchen adsorbierten und physiologisch wirksamen Wasserstoffionen.

Tabelle 6.

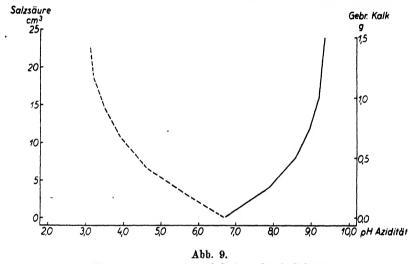
Veränderung der Azidität des normalen Versuchsbodens durch steigende Zusätze von 1/1 n HCl (Salzsäure) und CaO (Calcaria usta).

	cm <sup>8</sup> HCl 1/1 n auf 100 g Feinerde	Azidität pH	Gramm CaO auf 100 g Feinerde	Azidität pH
•	0,0 2,7 6,7 10,6 14,7 18,7 22,7	6,75 5,79 4,59 3,93 3,51 3,20 3,13	0,00 0,25 0,50 0,75 1,00	6,75 7,87 8,58 8,95 9,20 9,87

Der normale Versuchsboden besaß einen Säuregrad von pH 6,5 bis 7,0; es können in diesem somit keine bedeutenden Mengen von Karbonaten vorhanden sein. Die Veränderung der Azidität des Ausgangsbodens nach der basischen Seite wurde durch Zusatz pulverisierten gebrannten Kalkes bewirkt, nach der sauren Seite durch Einwirkung von 1/1 normaler Salzsäure. Tabelle 6 und Abb. 9 zeigen die Veränderlichkeit des normalen Versuchsbodens durch steigende Mengen von Basen und Säuren. Aus diesen Angaben ist auch die Stärke der Pufferung des Bodens ersichtlich.

Die mit Salzsäure behandelten Böden enthalten nach Abwicklung der chemischen Umsetzungen Reste von freier Säure und als Austausch-

produkte Choride (namentlich CaCl<sub>2</sub>), die für die Pflanzen ausgesprochene Giftwirkung besitzen. Infolge der Löslichkeit dieser Stoffe lassen sich diese durch Auswaschung des Bodens entfernen. Gleichzeitig mit der Säure- oder Kalkbehandlung wurde allen Böden eine geringe Menge Formaldehyd (S. 15) zugesetzt, wodurch eine gute einmalige Desinfizierung des Bodens von anwesenden pathogenen Pilzen erzielt wurde. Nach zweitägiger Wartezeit und mehrmaligem Durcharbeiten des bis dahin nur gut angefeuchteten Bodens mit der Hand wurden die sauren Böden in großen glasierten Steinguttöpfen mit Leitungswasser oder destilliertem Wasser (bei extrem sauren Böden) gründlich durchspült und das Auswaschwasser



Veränderung des normalen Versuchsbodens durch Salzsäure (1/1 n) und gebrannten Kalk; Mengen je 100 g Feinerde. Pufferung.

nach Klärung abgehebert. Dieses Verfahren wurde je nach Größe des Säurezusatzes ein- bis viermal wiederholt, solange, bis der Boden vollständig frei von Säure und Chloriden war. Das beim Auswaschvorgang verwendete kalkhaltige Leitungswasser verringerte die anfängliche Wasserstoffionenkonzentration, so daß bei den für die Keim- und Infektionsversuche verwendeten Böden größere Säuremengen zur Anwendung gelangten, als aus Tabelle 6 ersichtlich ist. Die weitere Behandlung der Böden entspricht der beim normalen Versuchsboden angewandten.

Durch die Säurebehandlung wurden außer dem Kalzium vor allem die Eisen- und Aluminiumkationen aus dem Boden herausgeworfen und im Waschwasser entfernt. Während auf der basischen Seite der Bodenreihe die Veränderungen lediglich in einer Steigerung des Kalziumkarbonatgehaltes bestehen, sind diejenigen auf der sauren Seite wesentlich komplizierter. In Tabelle 7 sind die wichtigsten chemischen Veränderungen des extrem sauren Bodens mit pH 3,64 in Gegenüberstellung zum Aus-

Tabelle 7.

Chemische Analysen des normalen unveränderten Versuchsbodens und des mit Salzsäure behandelten extrem sauren Bodens.

Property of the Contract of th	Gewichtsprozent, auf wasserfreie Substanz berechnet			
Verbindung	Normaler Boden ohne Salz- säure-Behandlung Azidität pH 6,54	Extrem saurer, mit Salz- säure behandelter Boden Azidität pH 3,64		
Stickstoff	0,17	0,17		
Phosphorsäure	0,05	0,06		
Kali	0,09	0,08		
Kalk	0,49	0,15		
Magnesia	0,66	0,61		
Eisen und Tonerde	7,00	6,10		
Kieselsäure	0.09	0,13		

gangsboden festgehalten. Die chemischen Analysen wurden in dankenswerter Weise von der Schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchsanstalt in Oerlikon durchgeführt. Um die Aufbauverhältnisse der verschieden behandelten Böden speziell in bezug auf die Art der Anlagerung der Wasserstoffionen an die Ton-Kerne klar zu erfassen, wurde neben der elektrometrisch gemessenen "aktuellen" Azidität auch die hydrolytische Azidität einer Versuchsreihe bestimmt. Sie wurde durch einstündiges Schütteln von 100 g Feinerde mit 250 cm³ 1/1 n Kalziumazetat und Titration von 100 cm³ des Filtrates mit 1/4 n NaOH und Phenolphthalein als Indikator ermittelt. Tabelle 8 gibt einen Überblick über die Beziehungen zwischen aktueller und hydrolytischer Azidität der ganzen Reihe unserer Versuchsböden mit verschiedenem Säuregrad.

Tabelle 8.

Die aktuelle und hydrolytische Azidität der durch Zusatz von Salzsäure oder gebranntem Kalk veränderten Versuchsböden.

Aktuelle Azidität		Hydrolytische Azidität	Manage fraige Waggarateff		
pH (neg. Logarith- mus) cH Milliäquivalent freie H-Ionen		Milliäquivalent austausch- bare H-Ionen	Menge freier Wasserstoff- ionen in bezug auf austauschbare		
	g g		°/ <sub>0</sub>		
3,67 4,52 5,62 7,02 7,24 7,90 8,19 8,40	2,13 · 10 <sup>-4</sup> 3,02 · 10 <sup>-5</sup> 2,39 · 10 <sup>-6</sup> 9,55 · 10 <sup>-8</sup> 5,75 · 10 <sup>-8</sup> 1,25 · 10 <sup>-8</sup> 6,45 · 10 <sup>-9</sup> 3,98 · 10 <sup>-9</sup>	29,08 · 10 <sup>-3</sup> 20,31 · 10 <sup>-3</sup> 11,16 · 10 <sup>-3</sup> 4,51 · 10 <sup>-3</sup> 3,01 · 10 <sup>-3</sup> 1,38 · 10 <sup>-3</sup> 0,88 · 10 <sup>-3</sup> 0,08 · 10 <sup>-3</sup> 1)	0,7325 0,1487 0,0214 0,0021 0,0019 0,0010 0,0007		

Ausschlaggebend für die Verwendung von Salzsäure zur Veränderung der Azidität war die Überlegung, daß diese Säure bei wirksamer Beein-

<sup>1)</sup> Infolge Titrierung mit Phenolphthalein ungenau.

flussung eine möglichst geringfügige Veränderung der Aufbauverhältnisse des Bodens verursacht. Dazu kommt, daß die entstehenden unerwünschten Austauschstoffe leicht ausgewaschen werden können, was z. B. bei Verwendung von Schwefelsäure nicht der Fall ist (Gips!): Die Anwendung von wirksamen organischen Säuren, wie z. B. Essigsäure, erwies sich im Hinblick auf die starke Dispergierung des Bodens für unsere Versuchszwecke als praktisch unbrauchbar.

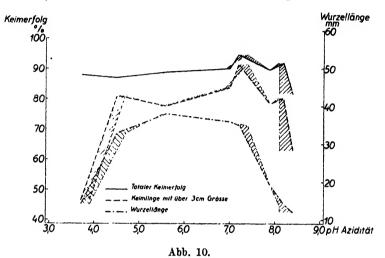
Von einer physikalischen Untersuchung der Böden mußte Abstand genommen werden. Erwähnt sei lediglich, daß der Boden mit einem Säuregrad von pH 7,2 bis 7,5 (schwacher Kalkzusatz) offensichtlich die stärkste Krümelung aufwies, während die Böden nach der sauren Seite hin immer ausgeprägtere Einzelkornstruktur annahmen.

Tabelle 9. Der Einfinß der Azidität des Bodens auf die Keimung und das Wachstum der Fichte.

Versuch 1			Versuch 2					
Konstante Temperatur 22,4 ° C			Konstante Temperatur 20,7 ° C					
	lität H	Totale Keimlings- zahl	Keimlinge mit über 3 cm Größe	Wurzel- länge	Azid p		Totale Keimlings- zahl	Wurzel- länge
vor Versuch	nach Versuch	٩/٥	%	mm	vor Versuch	nach Versuch	Absolut	mm
3,7	3,9	88,0 ± 3,8	$\begin{array}{c} 46.4 \pm 2.2 \\ 81.0 \pm 3.8 \\ 77.6 \pm 1.2 \\ 83.6 \pm 5.4 \\ 91.6 \pm 2.6 \\ 78.4 \pm 4.6 \\ 80.4 \pm 1.0 \\ 63.0 \pm 1.8 \end{array}$	14 ± 1	3,6	3,8	1298 ± 20	13 ± 1
4,5	4,7	87,0 ± 3,2		33 ± 1	4,6	4,9	1278 ± 28	35 ± 2
5,6	5,5	88,4 ± 3,4		38 ± 2	5,3	5,6	1454 ± 30	37 ± 2
7,0	6,9	90,0 ± 7,2		36 ± 2	6,4	7,0	1456 ± 19	34 ± 2
7,2	7,4	94,6 ± 2,2		35 ± 2	7,5	7,9	1409 ± 22	30 ± 2
7,9	7,9	89,6 ± 4,6		19 ± 1	7,8	8,2	1423 ± 13	15 ± 1
8,2	8,1	92,0 ± 3,2		14 ± 1	8,5	8,3	1394 ± 21	14 ± 1
8,4	8,1	81,6 ± 3,2		12 ± 1	8,7	8,3	1847 ± 38	12 ± 1

Tabelle 9 und Abb. 10 geben einen Überblick über die Abhängigkeit des Keimerfolges und der Keimlingsentwicklung von der Azidität des Bodens. Die hier zitierten Versuche wurden in unmittelbarer Verbindung mit den später angeführten Infektionsversuchen durchgeführt; sie spielten dort die Rolle von Kontrollversuchen. Der Keimerfolg (°/0) ist nur in auffallend geringem Maße von der Azidität des Bodens abhängig. Der optimale Säuregrad des Bodens in bezug auf Keimerfolg und Größe des Keimstengels scheint zwischen den Werten pH 7,2 (Versuch 1) und pH 5,3 (Versuch 2) zu liegen. Die Unterschiede der Keimergebnisse bei den einzelnen Säuregraden sind gegenüber den Schwankungen der Mittelwerte der Serien so klein, daß die Optimalwerte nur gegenüber den Extremen teilweise gesichert sind. Offensichtlich weit stärker als bei der Keimung der Samen macht sich der Einfluß der Azidität des Bodens bei der Entwicklung der Keimpflanzen geltend. Diese Erscheinung kommt sowohl in

der Größe der Keimlinge über Boden, als namentlich in der Entwicklung der Wurzeln zum Ausdruck. In beiden angeführten Versuchen findet die beste Wurzelentwicklung des selbständigen Keimlings bei einer Wasserstoffionen-Konzentration von pH 5,3 bis 5,6 statt. Das wirkliche Optimum liegt vermutlich etwas weiter gegen die basische Seite. Ausgesprochene Wurzelschäden machten sich bei den extremen Aziditätsgraden außerhalb pH 4,5 und 7,3 bemerkbar. Sowohl die Beobachtungen an den Kulturen



Einfluß der Azidität des Bodens auf Keimung und Keimlingswachstum der Fichte. Schraffierte Flächen: Schwankungsbereich der Azidität während des Versuches.

als auch die Zahlenresultate weisen einwandfrei auf die Tatsache hin, daß die Samenkeimung nur in unbedeutendem Maße von der Bodenazidität abhängig ist. Diese Erscheinung steht offenbar in unmittelbarem Zusammenhang mit der weitgehenden Selbständigkeit des Keimlings im frühesten Jugendstadium, solange die Ernährung aus den Samenreserven möglich ist. Dagegen ist die weitere Entwicklung der Keimpflanze und ganz besonders die Ausbildung des Wurzelsystems sehr stark an den Aziditätsgrad der Unterlage gebunden.

## D. Der Einfluß des Wassergehaltes des Bodens auf den Wirt.

In der Natur ist die Bodenfeuchtigkeit von der Häufigkeit und Menge der Niederschläge, der Intensität der Verdunstung und den physikalischen Bodeneigenschaften abhängig. Wasser- und Luftkapazität eines Bodens bleiben während längerer Zeiträume annähernd gleich; als veränderliche Größe tritt der Wassergehalt auf. Es scheint am zweckmäßigsten, den Wassergehalt des Bodens auf seine absolute Wasserkapazität zu beziehen, da diese den maximalen Wassergehalt unter normalen Abflußverhältnissen

eindeutig festlegt. Die Wasserkapazität gibt an, welche Wassermenge der betreffende Boden maximal kapillar zurückhalten kann (Burger, 1922).

Die Grundlage der vorliegenden Versuche bildet der normale versuchsbereite Boden (S. 15). Bezüglich weiterer Versuchseinzelheiten wird auf die später angeführten Infektionsversuche (S. 76) verwiesen, denen die hier zitierten als Kontrollversuche angegliedert sind. Die Grenzen der Veränderlichkeit des Wassergehaltes des Versuchsbodens sind einerseits durch die absolute Wasserkapazität (dieser Wassergehalt wird mit 100% bezeichnet) gegeben, andererseits durch den versuchstechnisch bedingten minimalen Wassergehalt. Dieser wird so gewählt, daß die Wassermenge gerade hinreicht, um dem lufttrockenen Boden die kleinstmögliche gleichmäßige Feuchtigkeit zu verschaffen. Im vorliegenden Fall entsprach dies einem Wassergehalt von rund 50% der absoluten Wasserkapazität. Durch Einschaltung von zwei Zwischenstufen ergab sich die normale Versuchsanordnung zu vier Serien.

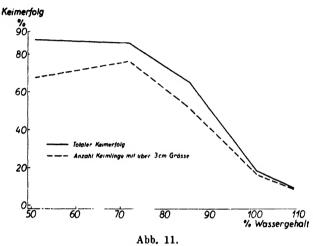
Tabelle 10.

Der Einfluß des Wassergehaltes des Bodens auf die Keimung und das Wachstum der Fichte. Konstante Temperatur 26,7°C. Versuchsdauer 29 Tage.

Wassergehalt in	Keimerfolg in Prozent der Samenzahl		
Prozent der absoluten Wasserkapazität	Totalzahl der Keimlinge, die über dem Boden erschienen	Keimlinge mit über 3 cm Größe	
50,7	$87.6 \pm 1.0$	$67.6 \pm 2.6$	
72,3	$85,6 \pm 1,4$	$76.0 \pm 1.8$	
86,6	$64.5 \pm 5.0$	$51,0 \pm 8,4$ $16,0 \pm 3,2$ $8,4 \pm 1,2$	
100,9	$18,0 \pm 1,6$	$16,0 \pm 3,2$	
108,2	9,0 王 1,8	$8,4 \pm 1,2$	

der tabellarischen Zusammenstellung der Versuchsresultate (Tabelle 10) und Abb. 11 ergibt sich eine sehr starke Abhängigkeit des Keimerfolges (%) und der Keimlingsentwicklung vom Wassergehalt des Bodens. Die maximale Keimzahl, bezogen auf die Gesamtheit der über Boden erschienenen Keimlinge findet sich beim geringsten Wassergehalt von 50,7%. Annähernd gleichen Keimerfolg zeigt ein Wassergehalt von 72,3%. Die optimale Entwicklung in bezug auf das allgemeine Aussehen der Keimpflanzen und in bezug auf die Anzahl Keimlinge, die innerhalb 29 Tagen die Größe von 3 cm über der Bodenoberfläche erreichten, liegt eindeutig bei einem Wassergehalt von 72,3%. Offenbar spielen die durch die hohe Bodentrockenheit bewirkten Störungen im Keimlingswachstum eine nicht unbedeutende Rolle, während für die Samenkeimung als solche eine geringe Feuchtigkeitsmenge genügt. Von einer eigentlichen Schädigung der Keimpflanzen in unserem trockensten Boden kann jedoch nicht gesprochen werden. Nach Marshall (1931) erfolgt ein Welken von Fichten-Keimpflanzen erst bei bedeutend geringerem Wassergehalt (1,2 Volumenprozent, in Quarzsandboden). Im Gegensatz zu trockenem Boden kann hoher Wassergehalt große Keimschäden verursachen. Es zeigt sich, daß der extreme Wassergehalt von 100 % einen Keimverlust von rund 70 % zur Folge hat. Ein Bodenwassergehalt von über 100 % verhindert die richtige Bewurzelung der Keimpflanzen.

Die Überprüfung der Azidität der Bodenserien mit verschiedenem Wassergehalt nach dem Versuch ergab vollständige Übereinstimmung der mittleren Säuregrade der Serien. Der unterschiedliche Wassergehalt bewirkt somit keine wesentlichen chemischen Veränderungen.



Einfluß des Wassergehaltes des Bodens auf Keimung und Wachstum der Fichte. Wassergehalt in Prozenten der absoluten Wasserkapazität.

#### 2. Die Parasiten.

Da die wichtigsten Wurzelbranderreger verschiedene morphologische und physiologische Eigenschaften besitzen, ist anzunehmen, daß sie auch in ihrem biologischen Verhalten nicht in gleichem Maße von den Umweltsverhältnissen abhängig sind, sondern bei der Verursachung des Wurzelbrandes auf verschiedene Art und je nach den Außenbedingungen in unterschiedlicher Stärke mitwirken. Aus diesem Grunde wurden die folgenden Untersuchungen mit sechs Pilzstämmen durchgeführt, wovon je zwei derselben Art oder Gattung angehören. Es sind dies:

Pythium de Baryanum Hesse, Stamm Nr. 1 und 5.

Fusarium bulbigenum C. et M. v. blasticola (Rostr.), Stamm Nr. 72.

Fusarium moniliforme Sheldon, Stamm Nr. 100.

Die Stämme Pythium de Baryanum Nr. 5, Fusarium bulbigenum Nr. 72 und Corticium vagum Nr. 20 und 32 sind eigene Isolierungen aus befallenen Nadelholzkeimlingen. Pythium de Baryanum Nr. 1, der durch Hartley isoliert wurde, sowie Fusarium moniliforme Nr. 100 hat uns das "Centraal Bureau voor Schimmelculturen" in Baarn, Holland, in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt.

Die Aufbewahrung der Reinkulturen erfolgte in der Regel in Reagenzgläsern auf Malzagarnährböden bei Zimmertemperatur in einem Schrank, in dem das Tageslicht schwachen Zutritt hatte.

# A. Der Einfluß der Temperatur auf die Parasiten.

Matsumoto (1921) hat die optimale Myzelwachstumstemperatur für verschiedene Stämme von Corticium vagum auf Bohnenagar zwischen 22 bis 34°C, die maximale Wachstumstemperatur von 38 bis 42°C ermittelt und festgestellt, daß bei 12°C allgemein kein Wachstum stattfindet. Nach Hemmi (1923) weist Johnson (1914) als günstigste Wachstumstemperatur für Pythium de Baryanum 33°C, für Rhizoctonia solani 25°C nach. Flohr (1930) stellt für Pythium de Baryanum die optimale Temperatur für lineares Myzelwachstum auf Difco-Dextrose-Agar bei 30°C fest; das Temperaturmaximum liegt in der Gegend von 36°C.

Trotz der Erkenntnis, daß die Stärke des Myzelwachstums eine aus einer ganzen Reihe teilweise sogar entgegengesetzter Wirkungen entstandene Größe darstellt und ferner die Raschheit des Myzelwachstums in keinem unmittelbaren Zusammenhang mit der beim Infektionsvorgang maßgebenden Virulenz steht (Fischer und Gäumann 1929), kann doch das Myzelwachstum als Maßstab der Abhängigkeit der allgemeinen Lebenskraft des Parasiten von der Temperatur aufgefaßt werden. Wir sind uns ferner bewußt, daß das Myzelwachstum in hohem Maße an andere Umweltsfaktoren gebunden ist (z. B. an den Nährboden), und daß sich der Einfluß derselben bei verschiedenen Temperaturen in wechselndem Ausmaße geltend machen kann. Infolgedessen können die auf künstlichen Nährböden ermittelten Wachstumsbefunde nur relativen Wert besitzen. Sie sind nicht imstande, weder über die Lage von Minimal- oder Maximaltemperaturen allgemeingültige genaue Auskunft zu geben, noch allgemein bindende Beziehungen über die Größe des Myzelwachstums bei den verschiedenen Temperaturen aufzustellen. Sie mögen hingegen bei geeignetem Nährsubstrat Anhaltspunkte über die ungefähre Lage des Temperaturoptimums und auch über die ungefähren Wachstumsgrenzen des Parasiten geben. Es wird indessen später nachgewiesen, daß gerade beim Wurzelbrand dem linearen Myzelwachstum sehr große Bedeutung zukommt.

# a) Das Myzelwachstum auf festem Nährboden.

Die erste Versuchsserie hatte die Aufgabe, das lineare Myzelwachstum auf der Fläche festzustellen. Als Wachstumsunterlage gelangte ein Malzagar-Nährboden folgender Zusammensetzung zur Verwendung: 20 g Agar und 40 g Malzextrakt (Handelsprodukt der Wander A.-G., Bern) in ein Liter destilliertem Wasser. Je 150 cm³ der in heißem Zustande flüssigen Lösung füllten wir in sögenannte Kolleschalen ab und verschlossen diese steril mit einem Wattebausch (Einzelheiten in Tanja, 1933). Die

Schalen wurden einer dreimaligen einstündigen Sterilisation bei 98° C mit zwischenliegender eintägiger Wartefrist unterworfen. Nach der letzten Sterilisation entstand durch horizontale Lagerung der Kolleschalen bei der Abkühlung eine glatte Nährfläche von mindestens 130 mm Durchmesser und 5 bis 10 mm Dicke. Die Beimpfung der Malzagarfläche in der Mitte der Schale erfolgte im sterilen Impfkasten durch Einbringen eines möglichst kleinen Stückes einer Reinkultur des zu untersuchenden

Tabelle 11.

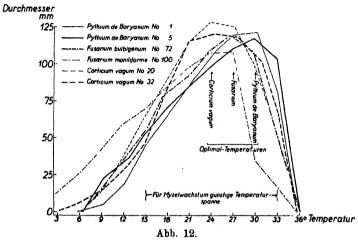
Abhängigkeit des linearen Myzelwachstums auf Malzagarnährboden von der Temperatur.

Temperatur	Zeit, b	is Kulturen m	ittleren Durch Stur	messer von 19 iden	20 mm erreich	t haben.
npe	Pythium de	Baryanum	Fusarium	Fusarium	Corticiu	m vagum
o Ter	Nr. 1	Nr. 5	bulaigenum Nr. 72	moniliforme Nr. 100	Nr. 20	Nr. 82
8 6 9 12 15 18 21 24 27 80 88 86		384 ± 18 176 ± 5 124 ± 3 96 ± 2 78 ± 1 66 ± 1 57 ± 1 52 ± 1 49 ± 0 56 ± 1	$\begin{array}{c} -\\ -\\ 1884\pm112\\ 782\pm11\\ 488\pm4\\ 348\pm4\\ 285\pm2\\ 245\pm2\\ 222\pm2\\ 251\pm5\\ 562\pm10\\ \end{array}$		1889 ± 61 566 ± 45 286 ± 13 190 ± 10 152 ± 6 124 ± 4 108 ± 4 362 ± 18	

Tabelle 12. Gleicher Versuch wie Tabelle 11.

		Mit	tlerer Durchme Mil	esser der Kult limeter	uren	
tar	Pythium d	e Baryanum	Fusarium bulb•genum	Fu-arium monsliforme	Corticius	n vagum
Temperatur	Nr. 1	Nr. 5	Nr. 72	Nr. 100	Nr. 20	Nr. 32
•C	Nach 48 Stunden	Nach 48 Stunden	Nach 116 Stunden	Nach 312 Stunden	Nach 117 Stunden	Nach 108 Stunden
8 9 12 15 18 21 24 27 80 88 86	0±0 0±0 0±2 19±1 45±1 66±1 91±2 109±1 120±4 192±2 88±1 0±0	0±0 0±0 28±2 37±2 52±3 71±3 86±1 101±1 118±1 104±1 8±1	0 ± 0 0 ± 0 18 ± 0 32 ± 1 56 ± 1 79 ± 1 98 ± 1 109 ± 1 109 ± 2 52 ± 1 0 ± 0	12 ± 1 26 ± 1 39 ± 1 59 ± 1 70 ± 3 82 ± 6 98 ± 4 108 ± 4 109 ± 6 85 + 1 17 ± 1 0 ± 0	0+0 0±0 14±3 38±5 64±7 87±5 115±5 129±3 126±1 100±3 58±4 0±0	0±0 5±1 16±1 31±1 46±2 81±8 116+8 121±2 119±8 109±2 67±3 0±0

Pilzes. Um Versuchsfehler zu vermeiden, wurden die verschiedenen Herstellungs-, Sterilisations- und Impfserien auf die verschiedenen Temperaturserien verteilt. Der ganze Wachstumsprozeß spielte sich im Dunkeln ab. Bei den meist sehr regelmäßig zentrifugal wachsenden Pilzkulturen ermittelten wir nach Ablauf eines gewissen Zeitraumes bei allen Kulturen gleichzeitig den größten und den kleinsten Durchmesser und verwendeten daraus den Mittelwert. Es wurde ferner der Zeitpunkt festgelegt, in dem jede Kultur den mittleren Durchmesser von 120 mm erreichte. Die genaue



Einfluß der Temperatur auf das lineare Myzelwachstum auf festem Nährboden. Durchmesser der Kulturen

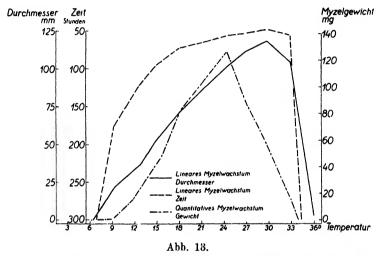
nach bestimmter, aber für jeden Stamm verschiedener Wachstumszeit.

Messung der Kulturen erfolgte bei durchscheinendem Lampenlicht auf der Rückseite der Schalen. Die Wiedergabe der Versuchsresultate geschieht auf Grund der festgestellten Durchmesser. Dabei ist natürlich zu berücksichtigen, daß diese Angaben auf zweiseitigem Wachstum beruhen.

Aus den in den Tabellen 11 und 12 und Abb. 12 enthaltenen Resultaten der Myzelwachstumsversuche auf festem Nährboden ergibt sich eine auffallende Übereinstimmung im Verlaufe der Kurven der Stämme derselben Art. Sie kommt sowohl in der Lage der Minimal- und der Maximaltemperaturen als auch in der der Optima zum Ausdruck. Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die optimale Wachstumstemperatur von Pythium de Baryanum knapp unterhalb 30°C, diejenige der Fusarien wenig unter 27°C und die von Corticium vagum bei 24°C liegt. Während Pythium de Baryanum namentlich bei höheren Temperaturen bedeutende Wachstumsfähigkeit zeigt, ist dies bei den tieferen Temperaturen für Corticium vagum der Fall. Die oberen Temperaturgrenzen für das lineare Myzelwachstum befinden sich bei allen untersuchten Parasiten in auffallender Übereinstimmung zwischen 33 und 36°C.

34 Conrad Roth:

Innerhalb eines weiteren Schwankungsbereiches liegen die minimalen Wachstumstemperaturen. Sämtliche Stämme zeigen bei 9°C noch Myzelwachstum. Auffallend ist das Verhalten von Fusarium moniliforme, dessen Wachstumskurve sowohl bei tiefen als bei hohen Temperaturen nach der kalten Seite verschoben ist. Die für das lineare Myzelwachstum günstige Temperaturspanne liegt, wenn in weitem Rahmen gefaßt, zwischen 15 und 34°C. Infolge der bedeutenden Unterschiede in der Lage der Optima von Corticium vagum und Pythium de Baryanum besitzt die enger gefaßte Optimalspanne aller Stämme eine beträchtliche Breite zwischen



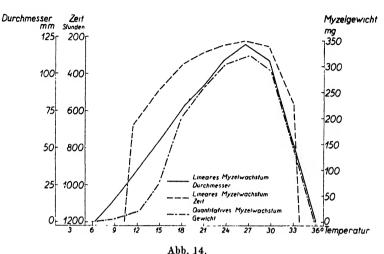
Einfluß der Temperatur auf das Myzelwachstum von Pythium de Baryanum Nr. 5.

1. Lineares Myzelwachstum auf festem Nährboden. Durchmesser der Kulturen nach

- 48 Stunden.
- Lineares Myzelwachstum auf festem Nährboden. Zeit bis Kulturen 12 cm Durchmesser erreicht haben.
- 3. Quantitatives Myzelwachstum in Nährlösung.

21 und 30°C. Aus den Wachstumskurven der verschiedenen Parasiten (Abb. 16) ist ersichtlich, daß mit Zunahme der allgemeinen Wachstumsgeschwindigkeit der optimale Wachstumsbereich bei den einzelnen Parasiten sich in zunehmendem Maße verbreitert. Bei Pythium de Baryanum ist dieser am breitesten, etwas schmäler bei Corticium vagum und bedeutend eingeschränkt bei den Fusarien. In den Abb. 13 bis 15 sind die wichtigsten Stämme getrennt behandelt. Aus den zwei Kurven des linearen Wachstums lassen sich die grundsätzlichen Unterschiede der beiden verwendeten Meßmethoden ersehen. Auf der von uns benützten Malzagar-Unterlage besitzen die Pythium-Stämme eine außerordentlich große Wachstumsgeschwindigkeit (Abb. 16). Es folgen in geringem Abstand die Corticium-Stämme, während die Fusarien bedeutend langsamere Entwicklung aufweisen. Bei der optimalen Temperatur durchwuchsen die beiden Puthium-

Stämme in 48 Stunden eine Strecke von 6 cm (Radius der Kultur); dabei wurde aber für die Anpassung des Impfmyzels an die Unterlage die Zeit von ½ bis 1 Tag benötigt, so daß die Wachstumsleistung in Wirklichkeit größer ist.



Einfluß der Temperatur auf das Myzelwachstum von Fusarium bulbigenum v. blasticola Nr. 72.

- 1. Lineares Myzelwachstum auf festem Nährboden. Durchmesser der Kulturen nach 9 Tagen.
- Lineares Myzelwachstum auf festem N\u00e4hrboden. Zeit bis Kulturen 12 cm Durchmesser erreicht haben.
- 3. Quantitatives Myzelwachstum in Nährlösung.

# b) Das Myzelwachstum in Nährlösung.

Die Kultur in Nährlösung ermöglicht die Feststellung des Myzelwachstums im Raum durch Ermittlung der gebildeten Trockensubstanz. Sie vermag vielleicht über die Entwicklung des Parasiten im Wirt ein richtigeres Bild zu geben als die Wachstumsmessungen auf der Fläche. Voraussetzung ist dabei allerdings, daß sich der Pilz nicht ausgesprochen aerob verhält, indem er sich nicht in der Flüssigkeit, sondern nur an deren Oberfläche entwickelt. Die Versuche in flüssigem Nährsubstrat liefern eine erwünschte Ergänzung der vorangehenden Versuchsresultate.

In der Wahl des flüssigen Nährsubstrates erwiesen sich die verwendeten Arten sehr kritisch. Eine Reihe von Vorversuchen hatte die Aufgabe, die jedem Stamm in einem möglichst weiten Temperaturbereich am meisten zusagende Nährflüssigkeit zu ermitteln. Es zeigte sich dabei, daß derselbe Pilzstamm sich bei der optimalen Temperatur annähernd gleich gut entwickeln kann, daß aber dabei die minimale Wachstumstemperatur unter Umständen eine ganz andere ist. Daraus folgt der allgemein gültige Schluß, daß für die Bestimmung der Temperaturkurve

nicht nur die Temperatur allein maßgebend ist, sondern unter anderem auch das Nährsubstrat, auf dem der Pilz wächst.

Für die Wachstumsversuche mit den Stämmen Pythium de Baryanum Nr. 1 und 5 wurde in Anlehnung an Burgeff (1909) folgende Nährlösung verwendet:

Destilliertes Wasser		•	1000	ccm
Kaliumnitrat			1,00	g
Dikaliumphosphat .			0,25	g
Magnesiumsulfat .			0,25	g
Eisenphosphat			0,05	g
Ammoniumsulfat .			0,50	g
Traubenzucker			20,00	g.

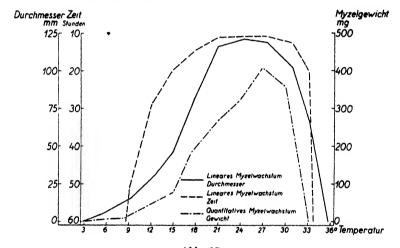


Abb. 15.

Einfluß der Temperatur auf das Myzelwachstum von Corticium vagum Nr. 32.

- Lineares Myzelwachstum auf festem N\u00e4hrboden. Durchmesser der Kulturen nach 108 Stunden.
- 2. Lineares Myzelwachstum auf festem Nährboden. Zeit bis die Kulturen 12 cm . Durchmesser erreicht haben.
- 3. Quantitatives Myzelwachstum in Nährlösung.

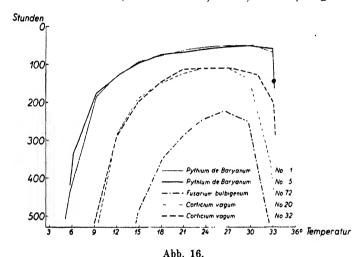
Die Wasserstoffionen-Konzentration der Lösung betrug nach dreimaligem Sterilisieren im Mittel pH 5,9.

Bei den Wachstumsversuchen mit Fusarium bulbigenum v. blasticola und Fusarium moniliforme wurde eine modifizierte Richard'sche Nährlösung verwendet, mit folgender Zusammensetzung:

Destilliertes Wasser			1000	ccm
Monokaliumphosphat			0,25	g
Kaliumnitrat				g
Magnesiumsulfat .				g
Ammoniumnitrat .			5.00	_

Die Wasserstoffionen-Konzentration betrug nach dreimaligem Sterilisieren pH 4,3.

Für die Wachstumsversuche mit den Stämmen Corticium vagum Nr. 20 und 32 mußte eine Malzextrakt-Nährlösung folgender Zusammensetzung verwendet werden:



Einfluß der Temperatur auf das lineare Myzelwachstum auf festem Nährboden.
Zeit bis die Kulturen 12 cm Durchmesser erreicht haben.

Nach dreimaligem Sterilisieren besaß die Nährlösung eine Azidität von pH 4,4. Versuche mit zahlreichen anderen Nährlösungen ergaben mit den beiden Corticium-Stämmen keine befriedigenden Ergebnisse. Die Malzextrakt-Lösung hat den Nachteil, daß sie auch nach Aufkochen und Abfiltrieren vor der Abfüllung in die Versuchskolben bei der darauffolgenden dreimaligen Sterilisierung noch geringe Ausflockungen bildet. Da jedoch der bei der Myzelgewichtsbestimmung dadurch verursachte Fehler (maximal 6 mg) bei allen Serien gleich ist, scheint dessen Vernachlässigung statthaft.

Die Kulturversuche wurden in 400 cm³-Erlenmeyerkolben (Kali-Muranoglas) mit genau 100 cm³ Nährlösung durchgeführt. Die Infizierung erfolgte mit möglichst kleinen Stücken einer auf Malzagar gewachsenen Reinkultur. Die Versuche wurden abgebrochen, bevor sich bei den Kulturen der optimalen Temperatur Wachstumshemmungen zeigten. Die Myzelgewichtsbestimmung erfolgte nach den bei genauen chemischen Analysen üblichen Methoden durch entsprechende Auswaschung im Filter, Trocknung bei 50 bzw. 103° C und zweimalige Filterwägung ohne und mit

38 Conrad Roth:

Myzel in Wägegläschen. Um experimentelle Fehler in den Resultaten möglichst auszugleichen, wurden auch bei diesen Versuchen die Serien gekreuzt.

Es ist anzunehmen, daß die durch den Temperatureinfluß bedingten Kurven des linearen Flächenwachstums mit den Kurven des Myzelwachstums in Nährlösung nicht vollständig übereinstimmen, da erstens verschiedene Nährsubstrate verwendet wurden und zweitens in einem Fall das Längenwachstum, im andern aber das Raumwachstum (Myzelgewicht) gemessen wurde. Tatsächlich zeigen sich im Verhalten einzelner Stämme in den Ergebnissen der beiden Versuchsreihen nicht unbedeutende Unterschiede (Tabelle 13, Abb. 13 bis 15, 17). Bei den beiden Corticium vagum-Stämmen (in beiden Versuchen Malzextrakt als Nährstoff) und Fusarium

Tabelle 13.

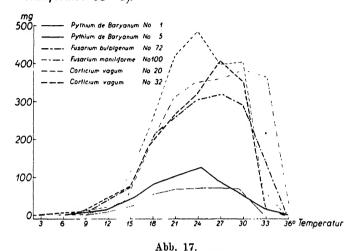
Abhängigkeit des Myzelwachstums in Nährlösung von der Temperatur.

<u> </u>	The second secon	M	yzeltrockengev	vicht in Millig	ramm	
Temperatur	Pythium d	e Baryanum	Fusarium bulbigenum	Fusarium moniliforme	Corticius	n vagum
dute	Nr. 1	Nr. 5	Nr. 72	Nr. 100	Nr. 20	Nr. 32
•()	Nach 10 Tagen	Nach 10 Tagen	Nach 10 Tagen	Nach 10 Tagen	Nach 14 Tagen	Nach 9 Tagen
3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33 36	$\begin{array}{c} 0 \pm 0 \\ 0 \pm 0 \\ 0 \pm 0 \\ 0 \pm 0 \\ 9 \pm 1 \\ 26 \pm 2 \\ 55 \pm 5 \\ 68 \pm 4 \\ 73 \pm 2 \\ 72 \pm 5 \\ 70 \pm 4 \\ 0 \pm 0 \\ 0 \pm 0 \\ \end{array}$	$\begin{array}{c} 0 \pm 0 \\ 0 \pm 0 \\ 8 \pm 1 \\ 15 \pm 1 \\ 47 \pm 2 \\ 82 \pm 6 \\ 103 \pm 7 \\ 127 \pm 7 \\ 91 \pm 7 \\ 59 \pm 2 \\ 17 \pm 1 \\ 0 \pm 0 \\ \end{array}$	$\begin{array}{c} 0 \pm 0 \\ 0 \pm 0 \\ 5 \pm 1 \\ 21 \pm 2 \\ 75 \pm 8 \\ 201 \pm 10 \\ 258 \pm 7 \\ 304 \pm 3 \\ 321 \pm 6 \\ 292 \pm 8 \\ 142 \pm 14 \\ 10 \pm 4 \end{array}$	$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{c} 0 \pm 0 \\ 0 \pm 0 \\ 12 \pm 2 \\ 28 \pm 3 \\ 110 \pm 10 \\ 231 \pm 23 \\ 423 \pm 12 \\ 487 \pm 21 \\ 400 \pm 17 \\ 406 \pm 18 \\ 69 \pm 27 \\ 0 \pm 0 \end{array}$	$0 \pm 0$ $6 \pm 1$ $9 \pm 1$ $46 \pm 3$ $78 \pm 8$ $182 \pm 9$ $265 \pm 11$ $320 \pm 16$ $408 \pm 24$ $357 \pm 23$ $18 \pm 1$ $0 \pm 0$

bulbigenum überdecken sich Wachstumsminimum, -maximum und -optimum ziemlich gut. Nicht vollständige Übereinstimmung zeigen Pythium de Baryanum Nr. 1, in verstärktem Maße Fusarium moniliforme und namentlich Tythium de Buryanum Nr. 5. Letzteres zeigt wohl annähernde Überlagerung der Minimal- und Maximaltemperaturen, dagegen besteht in der Lage der Optimaltemperaturen der beiden Kurven eine ganz eindeutige, außerhalb des Rahmens der mittleren Abweichungen liegende Differenz von mindestens 6 °C.

Innerhalb aller drei Arten kann beim quantitativen Myzelwachstum nicht mehr von einer strengen Übereinstimmung im Verhalten der Stämme derselben Art gesprochen werden. Wenn sich auch die Minimal- und Maximaltemperaturen des Wachstums meist noch überdecken, so zeigt doch die Lage der Optima Abweichungen bis 3°C (gesichert). Dies trifft z. B. für die beiden Stämme Corticium vagum Nr. 20 und 32 zu.

Obschon der für das Wachstum günstige Temperaturbereich gegen oben nicht mehr so einheitlich abgegrenzt ist wie beim Flächenwachstum, so bietet doch auch hier die Temperaturspanne von 15 bis 34° C allen Stämmen beim Wachstum in Nährlösungen günstige Entwicklungsbedingungen. Die engere Optimalspanne liegt zwischen 21 und 31°C (Fusarium moniliforme: 33°C).



Einfluß der Temperatur auf das quantitative Myzelwachstum in Nährlösungen.

Myzelgewicht. Wachstumszeiten verschieden.

# B. Der Einfluß der Wasserstoffionen-Konzentration auf die Parasiten.

Hawkins und Harvey (1919) stellten in Kartoffelextraktlösung mit Sodaphosphat-Puffer gutes Wachstum von Pythium de Baryanum innerhalb der Säuregrade pH 3,4 bis 5,8 fest. Die extremen Wachstumsgrenzen befanden sich bei pH 3,1 und 8,4. Myzelwachstumsversuche mit verschiedenen Stämmen von Rhizoctonia solani Kühn führte Matsumoto (1921) durch. Die Reaktionsänderungen erfolgten durch Zusätze von HCl und NaOH. An Hand kleiner Serien (zwei Stück) wurde das optimale Wachstum in verschiedenen Nährlösungen festgestellt: Kartoffelabsud pH 3,8, Zuckerrübenabsud pH 4,4 bis 5,5, modifizierte Richard'sche Nährlösung pH 4,4. Auch Sorauer (1928) macht Angaben über das Myzelwachstum von Corticium vagum. Das Optimum der Entwicklung soll beim Säuregrad pH 6,2 liegen. Als Wachstumsgrenzen werden die Werte pH 2.0 und 10,4 angegeben. Nicht in voller Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Hawkins und Harvey stehen die Untersuchungsresultate von Flohr (1930). Dieser erhielt optimales Wachstum von Pythium de Baryanum bei einer Azidität von pH 8,3; die Wachstumsgrenzen ermittelte er in der Gegend von pH 5,3 und pH 9,6. Benutzt wurde eine Dextrose-PeptonFleischextrakt-Nährlösung, deren Säuregrad durch Zusätze von HCl und NaOH verändert wurde. Die Aziditätsbestimmung erfolgte kolorimetrisch.

Da derselbe Säuregrad seine Entstehung der Zusammenwirkung ganz verschiedener Komponenten verdanken kann, deren chemische Bestandteile ihrerseits auf die Pflanzenentwicklung verschiedenartig einwirken, so wird der Pilz voraussichtlich auf jedem Nährboden in anderer Weise auf dieselbe Wasserstoffionen-Konzentration reagieren. Es darf jedoch angenommen werden, daß auch ohne weitergreifende Untersuchungen ausschließliche Aziditätsversuche einen bestimmten Allgemeinwert haben, wenn bei der Auswahl der Nähr- und Pufferlösungen die nötige Vorsicht angewendet wird.

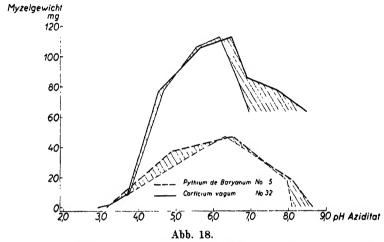
Die Verwendung von Agar-Nährböden erwies sich bei Säure-Versuchen als unmöglich, da der Agar bei hohen Aziditätsgraden nicht mehr fest wird. Für die Durchführung zuverlässiger Untersuchungen ist die Verwendung ausgesprochener Pufferlösungen unerläßlich. Gleichzeitig dürfen diese weder ausgesprochene Giftwirkung (z. B. Cl) besitzen, noch rasch abbaubare Nährstoffe darstellen. Für die Durchführung der Versuche am geeignetsten erwies sich ein Phosphorsäure-Natronlauge-Puffer, gebildet aus sich stets ergänzenden, wechselnden Mengen von 1/10 n H<sub>3</sub>PO, und 1/10 n NaOH. Da sich die Phosphorsäure mit sinkender Wasserstoffionen-Konzentration fortlaufend in ein- bis dreiwertige Phosphate umsetzt, kann mit dieser Pufferlösung der ganze praktisch interessierende Säurebereich umfaßt werden. Einzelheiten sind aus Webb (1921) und Michaelis (1910) ersichtlich. Als Nährlösungen verwendeten wir die bei den Temperaturversuchen erprobten. In 400 ccm - Erlenmeyerkolben (Kali - Muranoglas) wurden 100 cm<sup>3</sup> Nährlösung eingefüllt und sterilisiert. Zur Vermeidung von Umsetzungen zwischen Nährlösung und Pufferlösungen bei der Steri-

Tabelle 14. Abhängigkeit des Myzelwachstums von der Azidität der Nährlösung.

Pythium de Baryanum Nr. 5 Konstante Temperatur 26,3° C Versuchsdauer 7 Tage Corticium vagum Nr. 32 Konstante Temperatur 26,3° C Versuchsdauer 5 Tage

	dität oH	Myzelgewicht		dität H	Myzelgewicht
Vor Versuch	Nach Versuch	mg	Vor Versuch	Nach Versuch	mg
8,14 4,87 6,58 7,87 8,10 8,64	3,18 5,59 6,28 6,87 6,96 8,10	$   \begin{array}{c}     0 \pm 0 \\     37 \pm 6 \\     47 \pm 5 \\     30 \pm 2 \\     18 \pm 8 \\     0 \pm 0   \end{array} $	2,91 8,28 8,70 4,58 5,65 6,50 6,90 7,70 8,51	2,87 8,21 3,74 4,65 5,54 6,17 6,63 6,75 6,96	0±0 2±2 9±1 77±7 106±5 118±3 86±9 78∓9 68±9

lisierung (98°C) wurden die Pufferlösungen (10 cm³ auf 100 cm³ Nährlösung) in Reagenzgläsern (Kali-Muranoglas) getrennt sterilisiert und erst unmittelbar vor der Beimpfung den Nährlösungen zugesetzt. Die Messung der Azidität der Lösungen erfolgte vor und nach dem Versuch; bei den extrem basischen Serien sofort nach Chinhydron-Zusatz. Vergleichslösung und Apparatur wurden vor und nach den Messungen mit Standardazetat (pH 4,62) auf ihre Genauigkeit geprüft. Da die Schwankungen der Säurewerte innerhalb der Serien nur gering waren, erfolgte die Berechnung der Mittelwerte unter Zugrundelegung der pH-Zahlen an Stelle der wirklichen Jonen-Zahlen.



Einfluß der Azidität der Nährlösung auf das Myzelwachstum der Parasiten. Schraffierte Flächen: Schwankungsbereich der Azidität während des Versuches.

Die Ergebnisse der beiden durchgeführten Versuche sind in Tabelle 14 und Abb. 18 zusammengestellt. Die Stämme Pythium de Baryanum Nr. 5 und Corticium vagum. Nr. 32 verhalten sich insofern ähnlich, als bei beiden die untere Grenze der Entwicklung in der Nähe der Wasserstoffionen-Konzentration pH 3,1 liegt und das Wachstumsoptimum in der Gegend von pH 6,4. Während sich aber die obere Wachstumsgrenze von Pythium de Baryanum bei pH 8,4 befindet, vermag sich Corticium vagum bei diesem Aziditätsgrad offenbar noch gut zu entwickeln. Infolge der bedeutenden Schwankungen der Mittelwerte sind diese nur innerhalb weiter Grenzen gesichert. Die Veränderung des Säuregrades der Nährlösungen ist in Abb. 18 durch doppelte Führung der Wachstumskurven dargestellt.

# 3. Das gegenseitige Verhalten von Wirt und Parasit.

Angaben über den vegetativen Ablauf des Infektionsvorganges des Wurzelbrandes machen Sorauer (1908, 2, S. 125) und Burchard (1929, S. 286 bis 288). Weitere Feststellungen über die Tätigkeit von Wurzel-

branderregern an anderen Wirtspflanzen stammen von De Bary (1881, S. 526) und Hawkins und Harvey (1919).

Über die Lebensweise der Parasiten, insbesondere über ihr Vorkommen und die Art der Ausbreitung, ist man bis heute stark auf Vermutungen angewiesen. Auch die vorliegende Arbeit befaßt sich nur in sehr beschränktem Maße mit der Abklärung der Vorgänge, die dem Zusammentreffen von Wirtspflanze und Parasit vorausgehen.

Aufgabe dieses Abschnittes ist die Festlegung des Einflusses der Umweltsverhältnisse auf die biologischen Wechselbeziehungen der beiden am Infektionsvorgang beteiligten Partner. Anläßlich der Definierung des Wurzelbrandes wurden die Folgen eines erfolgreichen Angriffes des Parasiten auf die Wirtspflanze ausführlich beschrieben. In ihrer Auswirkung ist die Wurzelbrandkrankheit (wenn nicht "später Wurzelbrand" vorliegt) meist eindeutig. Eine befallene Pflanze wird durch die virulenten Erreger in so kurzer Zeit abgetötet, daß häufig überhaupt nur zwischen gesunden und kranken Keimpflanzen unterschieden werden kann. eine klare Auswertung der Versuchsergebnisse zu ermöglichen, werden diejenigen Keimpflanzen als gesund betrachtet, die im Augenblick der Aufnahme noch keine von Auge sichtbaren tödlichen Schädigungen erlitten haben. Als abgetötet werden vor allem die Keimlinge angesehen, die von selbst oder bei bloßer schwacher Berührung umfallen. Allen Infektionsversuchen, bei denen die Infizierung schon bei der Saat erfolgte, wurden Kontroll-Kulturen beigegeben. Sie ermöglichten eine einwandfreie Feststellung von allfällig auftretendem Fremdbefall und gaben zugleich die Grundlage für die Berechnung des Befalles in Prozenten der wirklichen normalen Keimzahlen. Ausgehend von der Überlegung, daß bei den Kontrollkulturen ein Einflußfaktor (Pilz) weniger mitspielt als bei den infizierten Kulturen, wurden die "Kontrollen" jeder Versuchsserie in halber Zahl der Serie zugewiesen.

Als Infektionsmaterial wurden bei sämtlichen Versuchen Reinkulturen auf Reisunterlage verwendet. Veranlassung dazu gaben die Erfahrungen von Rathbun-Gravatt (1925), daß die Virulenz zahlreicher Wurzelbranderreger bei Züchtung auf diesem Nährboden größer ist als auf anderen Substraten. Trotz ununterbrochen saprophytischer Einährung (auf verschiedenen Unterlagen) konnten wir an Hand des Verlaufes der sich folgenden Infektionsversuche kein merkbares Nachlassen der Virulenz der verschiedenen Pilzstämme feststellen.

# A. Die Pathogenität der verschiedenen Parasiten.

Untersuchungen über die Pathogenität verschiedener Pilzarten und stämme gegenüber Nadelholzkeimlingen haben in ausgedehntem Maße Hartley (1918, 1921) und Rathbun-Gravatt (1925, 1931) durchgeführt. Zu erwähnen ist auch Lindfors (1922). Wenn auch allen diesen

Versuchen der Nachteil anhaftet, daß sie nicht unter bestimmten Temperaturund Feuchtigkeitsverhältnissen durchgeführt wurden, so geben sie doch einen klaren Begriff der allgemeinen Bedeutung der verschiedenen Wurzelbrandparasiten. Die Versuche von Rathbun-Gravatt (1925) mit künstlicher Infektion des Keimstengels, sowie die Arbeit über Sameninfektion auf Agarunterlage (1931) liefern den Nachweis, daß sich der Befallsvorgang nicht auf bestimmte Organe des Wirtes beschränkt.

Um über die Eignung der uns zur Verfügung stehenden Pilzstämme eine allgemeine Orientierung für die späteren Versuche zu erhalten, wurde gleichzeitig und unter genau gleichen Bedingungen eine Versuchsreihe zur Abklärung der Pathogenität durchgeführt. Die Versuchsanordnung entspricht im allgemeinen den oben (S. 13 bis 19) beschriebenen Einzelheiten. Die Versuche wurden in kleinen Schalen durchgeführt (Größe 1); eine Beleuchtung der Kulturen fand jedoch nicht statt, so daß sich die Versuchsdauer auf 15 Tage beschränken mußte. Jede Serie umfaßte 10 Wiederholungen.

Das hier und bei allen späteren "Virulenzversuchen" verwendete Infektionsverfahren ist folgendes: Kleine Erlenmeyerkolben, enthaltend eine bestimmte Menge Reis und Wasser, werden dreimal sterilisiert. Der feste Nährboden, den die feuchte Reisschicht bildet, wird mit der Reinkultur eines Pilzstammes beimpft. Nach vollständiger Überwachsung und Durchwucherung der ganzen Reismasse durch das Myzel wird diese unter sterilen Bedingungen durch ein feines Sieb gepreßt und in bestimmter Menge destillierten sterilen Wassers geschüttelt. Diese Flüssigkeit, die Myzelteile in stark zerteilter Form enthält (bei den Fusarien auch Sporen), wird in Mengen von 50 cm³ auf die in den Schalen in lufttrockener Erde liegende Fichtensaat gleichmäßig ausgegossen. Damit ist eine intensive, bei allen Kulturen gleichmäßige Beimpfung des ganzen Bodens mit dem Pilz gewährleistet. Aussaat und Infektion erfolgen bei diesem Verfahren somit gleichzeitig und Wirt und Parasit erfahren eine enge örtliche Vereinigung.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in Tabelle 15 zusammengestellt. Pythium de Baryanum erweist sich sowohl in bezug auf den Keimverlust unter Boden, als auch in bezug auf den Keimlingsbefall über Boden als stark pathogen. Sehr virulent verhalten sich die Stämme Nummer 5 und 21 (eigene Isolierungen), während Stamm Nummer 1 (Hartley) weniger aktiv ist. Corticium vagum zeigte allgemein unter Boden viel geringere Pathogenität als Pythium de Baryanum. Corticium vagum-Stämme, wie z. B. Stamm Nr. 32, können dagegen beim Befall über Boden die virulentesten Stämme von Pythium de Baryanum an Wirksamkeit übertreffen. Diese wesentlichen Unterschiede im Verhalten der beiden Arten werden auch durch spätere Versuche bestätigt. Es soll dort auf diese Erscheinung näher eingegangen werden. Während die Pythium-Stämme unter sich in der Stärke des Befalles unter und über Boden ungefähr

Tabelle 15.

Einfluß der Pathogenität verschiedener Pilzstämme auf den Krankheitsbefall.

Konstante Temperatur 24,1° C. Versuchsdauer 15 Tage.

		A	nzahl Keimlin	ge	
	Unter Boden ge- tötet	Üher Bo	den getötet		Versuchs- getötet
Parasit	In Prozenten der Samen- zahl	In Prozenten der Samen- zahl	In Prozenten der über Boden erschienenen Keimlinge	In Prozenten der Samen- zahl	In Prozenten der Keim- zahlen der Kontrollen
Pythium de Baryanum, Nr. 1 Pythium de Baryanum, Nr. 5 Pythium de Baryanum, Nr. 21 Fusarium bulbigenum v. blasticola, Nr. 72 Fusarium moniliforme, Nr. 100 Corticium vagum, Nr. 20 Corticium vagum, Nr. 32 Corticium vagum, Nr. 35	6,4 ± 2,4	$\begin{array}{c} 8,6 \pm 1,2 \\ 6,2 \pm 0,8 \\ 0,0 \pm 0,0 \\ 0,0 \pm 0,0 \\ 3,8 \pm 1,2 \\ 63,8 \pm 3,0 \end{array}$	95,5 96,9 0,0 0,0 5,8 99,5	84,0 ± 2,0 87,8 ± 0,3 88,0 ± 0,2 6,4 ± 2,4 4,6 ± 1,2 26,4 ± 3,6 87,6 ± 0,4 61,8 ± 4,4	99,5 99,9 7,3 5,2 29,9 99,4
Kontrollversuch, ohne Parasit .	0,0±0,0	0,0 ±0,0	0,0	0,0±0,0	0,0

gleiches Verhältnis aufweisen, verhalten sich die Corlicium-Stämme in dieser Beziehung sehr unterschiedlich. Die Corticium-Stämme Nr. 20 und 32 zeigen unter Boden fast gleich starken Befall (zirka 23%); über Boden ist aber Nr. 32  $(99.5^{\circ}/_{0})$  viel virulenter als Nr. 20  $(5.8^{\circ}/_{0})$ . In bezug auf die Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch getöteten Keimlinge erwiesen sich stark virulente Stämme von Corticium ragum ebenso pathogen wie stark virulente Stämme von Pythium de Baryanum. Nur sehr geringe Pathogenität unter Boden äußerten Fusarium bulbigenum v. blasticola und Fusarium moniliforme. Während der ganzen Versuchsdauer vermochten die Fusarien an den Keimpflanzen über Boden keinen Befall zu bewirken. Dasselbe eigenartige Verhalten zeigten auch andere, gleichzeitig untersuchte Fusarium-Stämme. Spätere Versuche mit Fusarium bulbigenum v. blusticola und Fusarium monuliforme (S. 53) ergaben, daß der Befall erst nach einer bestimmten, von den Umweltsverhältnissen abhängigen Zeitdauer einzusetzen vermag (lange lnkubationszeit).

Hartley (1921) und Rathbun (1925) weisen für Fusarium moniliforme, das als eine der virulentesten Fusarium-Arten angesehen wird, allgemein geringere Pathogenität nach als für Pythium de Baryanum und Corticium vagum. Dounin und Goldmacher (1926) erhielten bei Infektionsversuchen mit Fusarium bulbigenum v. blasticola (syn. Fusarium blasticola) an Pinus silvestris-Saaten fast keinen Befall. Die in vorliegendem Versuch verwendeten Wurzelbranderreger zeigten auch bei den späteren Untersuchungen entsprechende Verhältnisse in der Pathogenität wie die soeben beschriebenen.

# B. Der Einfluß der Temperatur auf den Befall.

Genaue experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur auf das Auftreten des Wurzelbrandes der Nadelhölzer sind unseres Wissens bis heute nicht durchgeführt worden. Nach Jones (1917) wiesen Jones (1908) und Gifford (1911) auf den Zusammenhang des Auftretens von "damping-off" mit hohen Bodentemperaturen hin. Hartley (1921) hat durch Temperaturmessungen in einem Pflanzgarten einen Zusammenhang zwischen der Lufttemperatur und der Stärke des Wurzelbrandes festgestellt. Er machte die Beobachtung, daß sich Temperatur- und Befallskurve im täglichen Gang parallel laufen, daß sie hingegen während längerer Zeiträume nur allgemein ähnlichen Verlauf zeigen. Aus diesen Ergebnissen läßt sich erkennen, daß außer der Temperatur offenbar auch andere Umweltseinflüsse maßgebende Bedeutung besitzen. kommt zum Schluß, daß hohe Temperaturen "damping-off" im allgemeinen zu begünstigen scheinen. Bedeutend zahlreicher als die Literatur, die Temperaturfragen des Wurzelbrandes der Nadelhölzer behandelt, sind Arbeiten, die die Abhängigkeit des Befalles der hier interessierenden Parasiten gegenüber anderen Wirtspflanzen zu ermitteln suchen, wie: Balls (1908), Richards (1921) und Hemmi (1923).

### a) Virulenzversuche.

Die erste Versuchsreihe zur Überprüfung des Einflusses der Temperatur auf den Befall wurde in kleinen Glasschalen (Größe 1) durchgeführt. Die allgemeinen Versuchsgrundsätze ergeben sich aus der Einleitung des 2. Kapitels. Diese Versuche werden der Einfachheit halber als "Virulenzversuche" bezeichnet. Dabei wird von der Annahme ausgegangen, daß bei der angewendeten Infizierungsmethode (Seite 43) infolge der engen örtlichen Vereinigung von Wirt und Parasit in erster Linie die durch die unterschiedlichen Verhältnisse bedingte Virulenz beim Befall von ausschlaggebender Bedeutung ist. Sowohl die Verwendung eines natürlichen Bodens, als auch die Infizierung des Bodens selbst ergaben eine Versuchsanordnung, die den Freilandverhältnissen unter gewissen Umständen sehr nahe kommen kann. Wir sind uns bewußt. daß dem linearen Myzelwachstum trotz der Infizierung der ganzen Bodenfläche vor und während des Befallsvorganges nicht zu unterschätzende Bedeutung zukommt. Dies wäre aber auch bei Anwendung der von Rathbun (1921. 1925) ausgearbeiteten Methode mit unmittelbarer Infizierung der einzelnen Keimpflanzen nicht vollständig zu vermeiden. Bedenken gegen die Verwendung von künstlichen Nährböden als Entwicklungs-Ausgangspunkt für 46 Conrad Roth:

den Parasiten bei Infektionsversuchen veranlaßten uns, an der Verwendung eines natürlichen gemeinsamen Nährbodens von Wirt und Parasit festzuhalten. Es kann später nachgewiesen werden, daß dank dem angewendeten Versuchsverfahren sich gewisse biologische Eigenheiten der einzelnen Parasiten-Arten nachweisen lassen. In bestimmtem Gegensatz zu den Virulenzversuchen steht eine spätere Versuchsreihe, wo dem linearen Myzelwachstum neben der reinen Virulenz ausschlaggebende Bedeutung zukommt.

Aus technischen Gründen umfaßt die einzelne Serie jedes Versuches nur acht Einzelkulturen. Diesen beigesellt sind vier nicht infizierte Kontrollen. Die Infektionsversuche wurden als Doppelversuche durchgeführt, indem gleichzeitig die beiden Stämme derselben Pilzart oder Gattung auf ihr Verhalten geprüft wurden. In jedem Thermostaten standen somit 2×8 infizierte Kulturen und vier Kontrollkulturen. Alle Kulturen wurden vom Austritt der Keimpflanzen aus dem Boden bis zum Versuchsabbruch belichtet. Die Azidität des Bodens betrug vor dem Versuch pH 6.6 und erniedrigte sich im Laufe des Versuches bei den verschiedenen Temperatur-, Kontroll- und Infektionsserien gleichmäßig auf einen Säuregrad von pH 7.3. Daraus kann der Schluß abgeleitet werden, daß trotz der langen Versuchsdauern weder unter dem Einfluß der Impfung mit dem auf Reisunterlage gewachsenen Myzel, noch durch Einwirkung verschiedener Temperaturen eine abweichende Veränderung der chemischen Eigenschaften des Versuchsbodens bewirkt wurde. Die Ursache der allgemeinen Verschiebung der Azidität des Bodens konnte nicht festgestellt werden; für den Versuch selbst ist diese aber praktisch belanglos. Die Ermittlung der Zahl der abgetöteten Keimpflanzen und ihre Entfernung aus den Schalen erfolgte anläßlich der täglichen Kontrolle der Kulturen. Bei Versuchsabbruch wurde die Anzahl der überlebenden Keimlinge festgestellt-

Der Ablauf des Infektionsvorganges ist durch das Verhalten von Wirt und Parasit bedingt. Wie spätere Versuche nachweisen werden, ist das Verhältnis der beiden Partner auch unter konstanten Umweltsverhältnissen stets wechselnd. Die Ursache dieser Erscheinung ist in der fortschreitenden Entwicklung der Keimpflanze zu suchen. Die Feststellung des Befalles eines bei verschiedenen Temperaturen durchgeführten Infektionsversuches in einem bestimmten Zeitpunkt vermag einen gewissen Begriff über den Einfluß der Temperatur auf den Befallsvorgang zu geben. Da aber der Entwicklungsstand der Wirtspflanzen bei den einzelnen Serien ganz verschieden ist, sind diese Ergebnisse nicht imstande, über die wirklichen Virulenzverhältnisse oder über die endgültigen Beziehungen der beiden Partner richtige Aufklärung zu geben. Die Feststellung des Befalles für entsprechenden Entwicklungsstand der Keimpflanzen, die unter dem Einfluß verschiedener konstanter Temperaturen standen, ist möglich durch Ermittlung der Anzahl der über Boden erschienenen Keim-

linge, sowie der Zahl der Keimlinge, die eine Größe von 3 cm über der Bodenoberfläche erreichten. In beiden Fällen ist die Größenentwicklung der Keimpflanzen dieselbe. Eine dritte Vergleichsmöglickeit ergibt sich aus den früheren experimentellen Feststellungen über den zeitlichen Ablauf des Keimungsvorganges bei verschiedenen Temperaturen (Tabelle 5). Die Keimversuche auf Filtrierpapier in Kristallisierschalen ergaben für alle Temperaturstufen die mittleren Zeiträume, die von der Saat bis zur Erreichung der Keimlingslänge von 1 cm verstreichen. Diese Zeiträume werden mit z, ... z<sub>x</sub> bezeichnet. Da die Überdeckung der Samen mit Erde bei den Infektionsversuchen nur 1 bis 3 mm stark ist, so müssen die Keimlinge normalerweise vor Ablauf dieser Zeitspannen über Boden erscheinen. Es wird hier von der nicht näher nachgeprüften Annahme ausgegangen, daß der Entwicklungsstand der Keimlinge der verschiedenen Temperaturstufen nach Ablauf der Zeiten z. ... zx sowohl bei Keimung auf Filtrierpapier als im annähernd neutralen Versuchsboden gleich ist. Im Hinblick auf die Tatsache, daß die Aziditätsversuche eine weitgehende Unabhängigkeit der Keimresultate von den chemischen Eigenschaften der Unterlage ergeben haben, scheint diese Voraussetzung statthaft zu sein. Aus praktischen Gründen ist es wünschenswert, die Vergleichszeitpunkte bei den verschiedenen Temperaturstufen allgemein proportional den ermittelten Zeiträumen (z<sub>1</sub>...z<sub>x</sub>) um einen geringen Betrag hinauszuschieben. Es geschieht dies durch Multiplikation der Größen z<sub>1</sub>...z<sub>x</sub> mit einem gemeinsamen Faktor. Wenn dieser nicht größer als 2,0 ist, darf angenommen werden, daß der dadurch in die Vergleichszahlen hineingetragene Fehler von untergeordneter Bedeutung ist. Eine weitere Möglichkeit, die Versuchsresultate auf einwandfreier Grundlage in Gegenüberstellung zu bringen, ergibt sich aus der Feststellung des Befalles in den Zeitpunkten, wo die Widerstandsfähigkeit der Keimpflanzen so groß ist, daß kein Befall mehr erfolgt. Diese Widerstandsfähigkeit kann auf die individuelle Veranlagung oder auf die entwicklungsmäßig bedingte gesteigerte Widerstandsfähigkeit der betreffenden Wirtspflanzen zurückzuführen sein. Die kritischen Zeitpunkte, die zugleich den Versuchsabbruch der betreffenden Serie bestimmen, sind dann erreicht, wenn während mehrerer Tage an den Keimpflanzen kein Befall mehr auftritt. Die langen Keimzeiten und das langsame Keimlingswachstum bedingten bei den tiefen Temperaturen sehr lange Versuchsdauern (bis 120 Tage).

In den Tabellen 16 bis 18, die die Resultate der Virulenzversuche in gedrängter Form wiedergeben, wurden an erster Stelle die wirklichen mittleren Keimlingszahlen je Schale aufgeführt. Da in jede Schale 50 Samen gesät wurden, lassen sich die entsprechenden Werte in Prozenten der ursprünglichen Samenzahl durch Multiplikation mit 2 berechnen, wenn dazu das Bedürfnis besteht. In den absoluten Befallszahlen kommen gleichzeitig zwei verschiedene Einflüsse zur Geltung, nämlich die unmittelbare Ein-

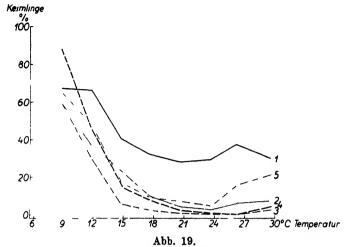
48

wirkung der Temperatur auf die Keimung des Wirtes und der Einfluß der Temperatur auf das Verhalten von Wirt (Widerstandsfähigkeit) und Parasit (Aggressivität). Bei der Besprechung der Versuchsresultate wird lediglich auf die durch die Virulenz allein bedingten Befallszahlen, ausgedrückt in Prozenten der wirklichen Keimzahlen der Kontrollen, eingegangen. Diese Zahlen geben ausschließlich den Einfluß des Parasiten auf den Wirt wieder. Der Befall über Boden kann am zweckmäßigsten in Prozenten der Anzahl der über Boden erschienenen Keimlinge des betreffenden Versuches selbst angegeben werden. In einigen Versuchen zeigten auch die Kontrollserien bei hoher Temperatur (30°) nach gewisser Zeit Erkrankung und tödlichen Befall eines Teiles der Keimpflanzen. Die ungünstige Entwicklung des Wirtes bei überoptimalen Temperaturen machte es Pilzen, die sonst ausgesprochen saprophytisch tätig sind, wie Penicillium-Arten, vor allem aber Bakterien, möglich, gelegentlich bedeutenden Befall zu verursachen. Bei Reduktion der Befallszahlen der infizierten Kulturen auf die entsprechenden Werte der Kontrollen können diese unerwünschten Einwirkungen ausgeschaltet werden. Die berechneten Befallszahlen, ausgedrückt in Prozenten der Ergebnisse der Kontrollversuche, geben somit ein einwandfreies Bild über die Abhängigkeit der Virulenz von der Temperatur. Auf eine tabellarische Wiedergabe der täglichen Befallszahlen wird verzichtet, namentlich da der bedeutende Befall unter Boden nur mittelbar berechnet werden kann.

Tabelle 16 und die Abb. 19 und 20 geben die Resultate des Infektionsversuches mit den beiden Stämmen Pythium de Baryanum Nr. 1 und Nr. 5 wieder. Abgesehen von der stärkeren Virulenz des Stammes Nr. 5 verhalten sich die beiden sehr ähnlich. Der eindeutig stärkste Befall erfolgt bei einer Temperatur von 21°C. Die hohe Virulenz von Stamm Nr. 5 hat zur Folge, daß zwischen 15 und 24° C weniger als 10°/0 der Keimlinge über Boden erscheinen und bei Versuchsabbruch (nach 23 Tagen) bei konstanten Temperaturen von 15 bis 27°C keine lebenden Keimlinge mehr vorhanden sind. Der stärkste Befall in der Versuchsreihe mit Stamm Nr. 1 scheint sich im Laufe des Versuches von 21 nach 27° C hin zu verschieben. Eine deutliche Abschwächung der Befallsstärke zeigen bei beiden Stämmen Nr. 1 und Nr. 5 die Temperaturstufen 30°C und namentlich 9 und 12 ° C. Eine offensichtliche, wenn auch nicht bedeutende Schwächung der Widerstandsfähigkeit des Wirtes durch extreme Temperaturwerte (9°C, 30°C) zeigt sich nur im Befall unter Boden, nicht aber im Befall über Boden. Die früheren Keimversuche, wie auch die gleichzeitig durchgeführten Kontrollversuche ergeben, daß das Keimungsoptimum der Fichte, bezogen auf den Keimerfolg, zwischen 15 und 24° C liegt; die größte Keimgeschwindigkeit bewirkt die Temperatur 24 ° C. Die Stämme Pythium de Baryanum Nr. 1 und 5 zeigen raschestes lineares Myzelwachstum wenig unterhalb 30 °C; das Optimum des quantitativen Myzelwachstums befindet sich bei 24°C. Das Maximum der Befallsstärke stimmt somit

Tabelle 16. Einfluß der Temperatur auf den Befall. Virulenzversuch.

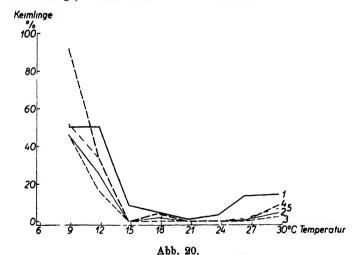
							Anzahl Keimlinge	imlinge			
÷	Tem-	Versuchs-	Üt. Boden er	Über Boden erschienen	Gre von 3 cm	Größe 3 cm erreicht	Nach 2,0 · z gesund	· z Tagen und	Bei	Versuchsabb	Bei Versuchsabbruch gesund
rarasıt	peratur °C	daner Tage	Anzahl pro Schale	In Prozenten der Kontrollen	Anzahl pro Schale	In Prozenten der Kontrollen	Anzahl pro Schale	In Prozenten der Kontrollen	Anzahl pro Schale	In Prozenten der Kontrollen	In Prozenten der über Boden erschienenen Keimlinge
1	25	3	4	5	9	7	8	6	10	11	12
Kontrollen	8,8 111,8 14,8 17,7 20,7 26,3 26,3	73 65 47 82 83 83 83	21,5 ± 4,3 33,5 ± 4,3 46,5 ± 0,8 46,5 ± 0,6 46,0 ± 0,4 43,5 ± 1,5 32,0 ± 2,3		15,5 + 3,2 45,2 + 1,9 44,5 + 0,9 44,5 + 0,7 43,5 + 0,7 43,5 + 1,4 41,7 + 1,4 41,0 + 1,6 7,1,6 1,5 1,5 1,5 1,5 1,5 1,5 1,5 1,5		21,5 + 4,3 46,5 + 4,3 46,5 + 0,8 46,5 + 0,6 46,3 + 0,6 46,0 + 0,6 48,5 + 1,5 5,5 7,2 1,5 1,5 1,5 1,5 1,5 1,5 1,5 1,5		21,5 + 4,3 46,5 + 6,8 46,5 + 0,8 46,5 + 0,6 46,3 + 2,1 46,0 + 0,4 48,3 + 1,5 16,3 + 1,5 16,3 + 1,5		100,0 100,0 100,0 100,0 100,0 100,0 51,0
Pythium de Baryanum Nr. 1	8,8 11,8 14,8 17,7 20,7 28,7 26,3	73 65 43 83 83 85 85 81	14,5 ± 0,8 182,8 ± 1,6 184,8 ± 3,7 14,8 ± 2,7 12,8 ± 3,0 13,4 ± 1,7 16,1 ± 1,8 9,5 ± 2,2	67,4 66,2 39,8 31,8 27,7 29,2 37,0	10,1 + 1,2 15,5 + 1,6 7,6 + 2,3 4,0 + 1,5 3,0 + 1,1 2,0 + 0,6 6,3 + 1,2 4,6 + 1,7	65,2 48,2 16,8 9,0 6,9 4,6 15,4	12.8 ± 0,9 12.5 ± 1,4 10,8 ± 2,6 4,5 ± 1,2 1,9 ± 1,1 1,2 ± 0,5 2,6 ± 0,5 2,4 ± 1,0	59,5 87,8 23,3 9,7 4,1 2,6 6,0	12,8 ± 0,9 10,1 ± 1,0 2,6 ± 0,7 1,1 ± 0,7 0,3 ± 0,2 0,1 ± 0,1 0,0 ± 0,0 0,4 ± 0,1 0,4 ± 0,1	80 80 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40	88,3 45,7 14,1 7,4 7,4 0,0 4,9
Pythium de Baryanum Nr. 5	8,8 11,8 14,8 17,7 26,7 26,7 26,3	65 23 23 24 14 14 28 31	10,8 + 1,1 16,9 + 1,1 2,3 + 1,0,7 0,5 + 0,7 1,6 + 0,8 2,9 + 1,0 4,6 + 1,2	000 000 000 000 000 000 000 000 000 00	8,0 10,9 10,9 10,0 0,1 1,1 0,0 0,1 0,0 0,1 1,5 1,5 1,5 1,5 1,5 1,5 1,5 1,5 1,5 1	51,7 9,39,9 0,0 0,0 0,0 1,5 6,9	8.9.9 8.9.9 8.0.0 8.0.1 8.	• 46,0 25,7 0,0 2,1 2,1 0,0 0,0 0,7 7,4	9,000 0,011,11,000 0,001,11,11,11,11,11,11,11,11,11,11,11,1	4,000,000,000,000,000,000,000,000,000,0	98.50 9.50 9.00 9.00 7.00 7.00 7.00



Einfluß der Temperatur auf den Befall durch Pythium de Baryanum Nr. 1.

Virulenzversuch.

- 1. Gesamtzahl der über Boden erschienenen Keimlinge.
- 2. Anzahl der nach 2,0 · z Tagen gesunden Keimlinge.
- 3. Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge.
- 4. Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge, bezogen auf die Gesamtzahl der über Boden erschienenen Keimlinge der Infektionsserie selbst.
- 5. Anzahl der Keimlinge, die die Größe von 3 cm erreichten.

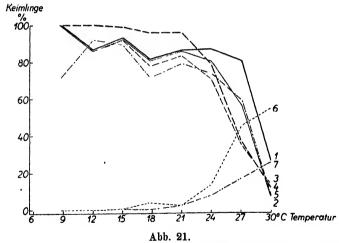


Einfluß der Temperatur auf den Befall durch Pythium de Baryanum Nr. 5.
Virulenzversuch.

- 1. Gesamtzahl der über Boden erschienenen Keimlinge.
- 2. Anzahl der nach 2.0 · z Tagen gesunden Keimlinge.
- 3. Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge.
- 4. Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge, bezogen auf die Gesamtzahl der uber Boden erschienenen Keimlinge der Infektionsserie selbst.
- 5. Anzahl der Keimlinge, die die Größe von 8 cm erreichten.

nicht mit den optimalen vegetativen Temperaturansprüchen des Parasiten überein. Wesentlich ist, daß Pythium de Baryanum bei optimaler Temperatur für seine vegetative Entwicklung (30°C) die Fichte weniger stark anzugreifen vermag als bei nichtoptimalen tieferen Temperaturen. Obschon die Temperaturstufe 30°C bedeutend über dem Optimum des Wirtes liegt, so daß eine Schwächung der Widerstandskraft zu erwarten wäre, macht sich hier im Gegenteil eine deutliche Verminderung der Virulenz bemerkbar. Das Entwicklungsoptimum des Wirtes und das Befallsmaximum liegen ungefähr bei derselben Temperatur. Der Wirt vermag sich somit unter optimalen Entwicklungsbedingungen keineswegs gegen den Befall durch die Parasiten zu schützen. Die genannten Tatsachen beweisen, daß weder die vegetative Entwicklung des Wirtes, noch diejenige des Parasiten von ausschlaggebendem Einfluß für die Stärke der Virulenz und den Ablauf des Befallsvorganges sind. Offenbar wird die Virulenz durch andere temperaturbedingte Vorgänge maßgebend beeinflußt (Enzymbildung; Fischer und Gäumann 1929, Seite 188).

Aus Tabelle 17 und den Abb. 21 und 22 sind die Resultate der Infektionsversuche mit Fusarium bulbigenum v. blasticola und Fusarium



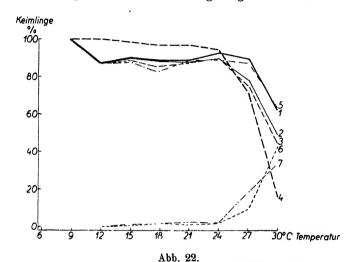
Einfluß der Temperatur auf den Befall durch Fusarium bulbigenum v. blasticola Nr. 72. Virulenzversuch.

- 1. Gesamtzahl der über Boden erschienenen Keimlinge.
- 2. Anzahl der nach 3,0 · z Tagen gesunden Keimlinge.
- 3. Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge.
- 4. Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge, bezogen auf die Gesamtzahl der über Boden erschienenen Keimlinge der Infektionsserie selbst.
- 5. Anzahl der Keimlinge, die die Größe von 3 cm erreichten.
- 6. Befall am Fuß des Keimstengels.
- 7. Befall am oberen Teil des Keimstengels oder an den Nadeln.

Fusarium monili- forme Nr. 100	Fusarium bulbige- num v. blasticola Nr. 72	Kontrollen	1	Parasit			
8,8 12,0 15,0 17,8 21,0 24,0 27,1 30,0	8,8 12,0 15,0 17,8 21,0 24,0 27,1 30,0	8,8 12,0 15,0 17,8 21,0 24,0 27,1 30,0	120	C Temperatur			
2;1 ± 0,3 31,3 ± 1,9 40,8 ± 1,0 42,3 ± 1,1 44,2 ± 1,2 44,0 ± 1,6 18,4 ± 1,2 18,4 ± 1,2	31,0 + 0,4 31,1 + 1,9 42,0 + 1,5 38,8 + 2,1 42,6 + 1,9 41,3 + 1,5 36,7 + 1,3 7,7 + 1,3	1,5 ± 0,7 36,0 ± 1,9 45,3 ± 1,5 47,8 ± 1,0 49,5 ± 2,8 47,5 ± 1,2 45,5 ± 1,4 29,5 ± 2,7	3	Anzahl pro Schale	Uber Boden erschienen	#	
100,0 87,0 90,1 88,7 89,2 92,8 89,8 62,4	100,0 86,3 92,9 81,2 86,1 86,1 87,0 80,7		4	In Prozenten der Kontrollen	den		
1,1 ± 0,4 24.8 ± 2,8 37,7 ± 1,6 38,8 ± 1,3 41,8 ± 1,4 41,2 ± 1,8 33,2 ± 1,8 4,9 ± 1,0	0,5 38,5 31,1 38,5 31,5 31,5 31,5 31,0 31,0 31,0 31,0 31,0 31,0 31,0 31,0	$0.7 \pm 0.3$ $28.7 \pm 0.6$ $43.0 \pm 0.6$ $47.0 \pm 0.9$ $46.8 \pm 2.0$ $46.2 \pm 1.3$ $38.0 \pm 2.5$ $7.7 \pm 2.6$	OT.	Anzahl pro Schale	Größe von ä erreicht		
100,0 86,8 87,8 82,7 89,5 89,1 87,2 63,8	(71,5) 92,0 92,0 71,5 79,5 79,5 73,8		6	In Prozenten der Kontrollen	at cm		
$\begin{array}{c} 2,1 & + & 0,3 \\ 81,3 & + & 1,9 \\ 40,8 & + & 1,1 \\ 42,2 & + & 1,1 \\ 43,6 & + & 1,2 \\ 43,2 & + & 1,6 \\ 35,7 & + & 1,7 \\ 10,1 & + & 0,9 \end{array}$	$\begin{array}{c} 2,0 \pm 0.4 \\ 31,1 \pm 1.9 \\ 42,0 \pm 1.5 \\ 38,8 \pm 2.1 \\ 42,6 \pm 1.9 \\ 38,2 \pm 1.5 \\ 25,6 \pm 1.4 \\ 2.0 \pm 1.1 \end{array}$	1,5 ± 0,7 36,0 ± 1,9 45,3 ± 0,5 47,8 ± 1,0 49,5 ± 2,8 47,5 ± 1,2 20,5 ± 3,5	7	Anzahl pro Schale	3,0 · z Ta	Nach	
100,0 87,0 90,1 88,2 88,0 91,0 78,6 49,3	100,0 86,3 92,8 81,2 86,1 86,1 80,5 56,2		<b>&amp;</b>	In Prozenten der Kontrollen	z Tagen esund		
2,1 ± 0,3 40,2 ± 0,9 40,8 ± 1,3 42,7 ± 1,4 29,3 ± 1,6 2,9 ± 0,5	$\begin{array}{c} 2,0 \pm 0,4 \\ 31,1 \pm 1,9 \\ 41,5 \pm 2,2 \\ 37,2 \pm 2,2 \\ 40,7 \pm 2,1 \\ 32,7 \pm 1,4 \\ 13.5 \pm 1,0 \\ 0.9 \pm 0,3 \end{array}$	$1.5 \pm 0.7$ $36.0 \pm 1.9$ $45.3 \pm 0.5$ $47.8 \pm 1.0$ $48.8 \pm 2.3$ $46.2 \pm 1.3$ $39.0 \pm 2.0$ $6.5 \pm 2.0$	9	Anzahl pro Schale	Bei Versuchsabbruch gesund		Anzahl Kei
100,0 87,0 88,8 85,5 87,5 90,0 75,2 44,7	100,0 86,3 91,7 77,8 83,3 70,8 34,7 13,9		10	In Prozenten der Kontrollen	rsuchsa gesund		Keimlinge
100,0 100,0 98,3 96,7 96,7 94,3 71,9 15,8	100,0 100,0 99,0 95,9 95,8 79,1 36,8 11,7	100,0 100,0 100,0 100,0 98,8 97,9 85,9 22,1	11	In Prozenten der über Boden erschienenen Keimlinge	bbruch		
$\begin{array}{c} 0,0-0,0\\ 0,0-0,0\\ 0,2-0,2\\ 0,7-0,4\\ 0,5-0,4\\ 1,6-0,4\\ 3,9-1,0\\ 7,9-1,1 \end{array}$	0,0-0,0 $0,0-0,0$ $0,2-0,2$ $1,5-0,4$ $0,9-0,3$ $5,4-0,5$ $16,6-1,3$ $4,2-1,4$	$\begin{array}{c} 0,0-0,0\\ 0,0-0,0\\ 0,0-0,0\\ 0,0-0,0\\ 0,0-0,0\\ 0,7-0,5\\ 1,0-0,4\\ 4,7-1,1\\ 14,8-1,8 \end{array}$	12	Anzahl pro Schale	Befall am Fuß Hypokotyls		
1,7 1,7 1,1 1,1 1,1 1,1	0,0 0,0 0,7 0,7 3,9 3,1 13,1 13,1 45,3	0,0 0,0 0,0 0,0 1,4 2,1 10,4	13	In Prozenten der über Boden erschienenen Keimlinge	Fuß des cotyls	Über Boden	
0,0-0,0 0,0-0,0 0,4-0,3 0,7-0,3 1,0-0,3 0,9-0,3 7,6-1,1 6,2-0,8	0,0-0,0 0,0-0,0 0,3-0,2 0,1-0,1 1,0-0,3 3,2-0,6 6,2-1,0 2,0-0,8	0,0-0,0 0,0-0,0 0,0-0,0 0,0-0,0 0,0-0,0 0,0-0,0 0,8-0,8	14	Anzahl pro Schale	Befall am o	n getötet	
0,0 1,0 1,6 2,8 33,8	0,0 0,0 0,7 0,2 2,4 2,4 25,8	000000000000000000000000000000000000000	15	In Prozenten der über Boden erschienenen Keimlinge	Befall am oberen Teil des Hypokotyls		

Tabelle 17. Einfluß der Temperatur auf den Befall. Virulenzversuch. Versuchsdauer 52 Tage.

moniliforme ersichtlich. Beide Arten zeigen grundsätzlich ähnliches Verhalten, nämlich schwach ansteigenden Befall von 9 nach 24 °C und rasches Emporschnellen der Befallszahlen von 24 nach 30 °C. Beide Fusarien erweisen sich nur bei Temperaturen über 24 °C als stark virulent. Unter dem Einfluß tiefer Temperaturen (9 bis 21 °C) erfolgt Befall fast ausschließlich nur unter der Bodenoberfläche, über Boden hingegen erst nach längerer Zeit und nur in geringem Ausmaße. Auch frühere



Einfluß der Temperatur auf den Befall durch Fusarium moniliforme Nr. 100. Virulenzversuch.

- 1. Gesamtzahl der über Boden erschienenen Keimlinge.
- 2. Anzahl der nach 3,0 · z Tagen gesunden Keimlinge.
- 3. Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge.
- 4. Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge, bezogen auf die Gesamtzahl der über Boden erschienenen Keimlinge der Infektionsserie selbst.
- 5. Anzahl der Keimlinge, die die Größe von 3 cm erreichten.
- 6. Befall am Fuß des Keimstengels.
- 7. Befall am oberen Teil des Keimstengels oder an den Nadeln.

Versuche (Seite 44) machten darauf aufmerksam, daß die Fusarien Keimverluste verursachen können, ohne daß die über Boden erscheinenden Keimpflanzen in den ersten Tagen ebenfalls Befall aufweisen. In Tabelle 18 sind die Zeiträume angegeben, die von der Saat bis zum Auftreten der ersten sichtbaren Infektionen verstreichen. Es läßt sich daraus erkennen, daß zwischen dem Auftreten des pilzparasitären Keimverlustes unter Boden und dem Auftreten des Wurzelbrandes an den Keimpflanzen über Boden ein Zeitraum ohne Befall liegt. Es scheint, daß der Fichtensamen oder der junge Keimling in einem gewissen Zustand unter Boden befallen werden kann, daß dagegen die älteren, über Boden erschienenen Keimpflanzen erst nach längerer Inkubationszeit abgetötet werden.

Tabelle 18.

Die Inkubationszeit als Funktion der Temperatur.

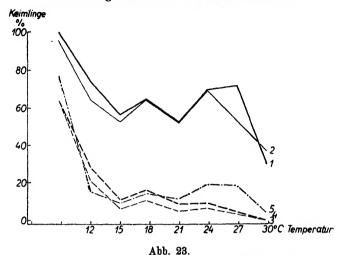
Zeitspanne, die von der Infizierung im Augenblick der Saat bis zum Auftreten des ersten Befalles an Keimpflanzen (über Boden) verstreicht.

	Anzah	l Tage
Temperatur °C	Fusarium bulbigenum v. blasticola Nr. 72	Fusarium moniliforme Nr. 100
8,8	-	
12,0	_	
15,0	52	52
17,8	40	80
21,0	26	26
24,0	20	22
27,1	16	16
80,0	16	18

Für Fusarum bulbigenum wurde optimales Myzelwachstum bei der Temperatur 27°C, für Fusarium moniliforme bei 24 bis 30°C nachgewiesen. Der maximale Befall (30°C) liegt somit in unmittelbarer Nähe der für das vegetative Wachstum der Parasiten günstigsten Temperatur. Das Verhalten der Fusarien steht auch in dieser Beziehung in offensichtlichem Gegensatz zu Pythium de Baryanum und, wie später nachgewiesen wird, auch zu Corticium vagum.

Neben der gewöhnlichen Form des Wurzelbrandes verursachen die beiden untersuchten Fusarium-Arten bei hohen Temperaturen (über 21 bis 24°C) Befall am oberen Teil des Keimstengels und an den Keimnadeln der Pflanzen. Aus den Kurven 6 und 7 der Abb. 21 und 22 ist ersichtlich, daß diese Form des Befalles einen bedeutenden Prozentsatz des Gesamtbefalles ausmacht.

Bei Corticium vagum (Tabelle 19 und Abb. 23 und 24) machen sich die entgegengesetzten Einflüsse der Widerstandsfähigkeit des Wirtes und der Aggressivität des Parasiten in einem bedeutend komplizierteren Verlauf der Befallskurven geltend als bei den besprochenen Arten. Als allgemein wichtiger Unterschied gegenüber dem Befall durch Pythium de Baryanum ist der auffallend schwache Befall zu nennen, der durch Corticium vagum bei niedrigen Temperaturen unter dem Boden verursacht wird. Bei hohen Temperaturen ist dagegen der pilzparasitäre Keimverlust bei beiden Corticium-Stämmen Nr. 20 und 32 bedeutend. Konstante Temperaturen von über 12 bis 15° C ermöglichen Corticium vagum an Keimpflanzen über dem Boden sehr starken Befall. Neben diesen gemeinsamen Merkmalen zeigen die beiden Stämme indessen abweichendes Verhalten. Es sei zunächst Corticium vagum Nr. 20 betrachtet. Ein ausgeprägtes Zwischenminimum in der Zahl der über Boden erschienenen Keimpflanzen bei der Temperaturstufe 21 ° C erinnert an das Verhalten von Pythium de Baryanum. Im Augenblick des Versuchsabbruches



Einfluß der Temperatur auf den Befall durch Corticium vagum Nr. 20. Virulenzversuch.

- 1. Gesamtzahl der über Boden erschienenen Keimlinge.
- 2. Anzahl der nach 1,6 · z Tagen gesunden Keimlinge.
- 3. Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge.
- 4. Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge, bezogen auf die Gesamtzahl der über Boden erschienenen Keimlinge der Infektionsserie selbst.
- 5. Anzahl der Keimlinge, die die Größe von 3 cm erreichten.

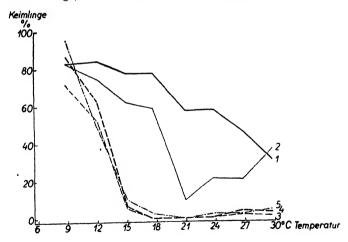


Abb. 24. Einfluß der Temperatur auf den Befall durch Corticium vagum Nr. 32. Virulenzversuch.

- 1. Gesamtzahl der über Boden erschienenen Keimlinge.
- 2. Angahl der nach 1,6 · z Tagen gesunden Keimlinge.
- 8. Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge.
- 4. Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge, bezogen auf die Gesamtzahl der über Boden erschienenen Keimlinge der Infektionsserie selbst.
- 5. Anzahl der Keimlinge, die die Größe von 8 cm erreichten.

Corticium vagum

Nr. 82

8,8 112,0 115,0 117,6 20,9 26,8 26,8

82,6 74,8 62,1 59,0 9,7 21,1 20,5

8,3 + 0,9 16,0 + 1,4 2,4 + 0,7 0,0 + 0,0 0,1 + 0,1 0,3 + 0,2 0,3 + 0,2

52,4 52,4 0,0 0,0 0,2 1,8

6,7 6,7 0,0 0,0 4,0 6,7

Kontrollen

0,8 12,0 15,0 17,6 20,9 23,8 26,8

Resultat nicht zuverlässig infolge Betriebsstörung 120 90 56 41 37 37 37 120 90 46 37 37 ಯ 120 90 30 30 30 42 46,5 46,5 46,5 46,5 46,5 46,5 48,5 9,525 6,038 11,6 26,2 30,2 31,9 31,9 4,1,1,0,1,0,0 Kontrollen 100,0 74,2 56,5 64,8 56,6 59,4 71,8 82,8 84,0 77,8 77,8 58,0 46,2 6,024 6,034 6,037 7,037 6 0 - 0 0 0 0 0 0 0 01010010 Kontrollen 95,5 48,7 10,2 2,7 0,0 2,3 2,3 4,6 77,0 15,5 9,3 14,4 11,5 119,2 18,6 11,6 30,5 46,2 46,5 46,5 46,5 46,3 46,3 46,0 11,1 19,6 26,2 80,0 80,0 26,2 31,8 31,8 9,4 œ 

95,64,7 66,65 66,7 66,85 66,85 66,85 66,85

7,4 + 1,4 6,4 + 0,8 2,9 + 0,8 4,9 + 1,1 2,3 + 0,8 3,0 + 0,8 3,0 + 0,8 1,5 + 0,6 1,5 + 0,6 1,0 + 0,0

63,9 21,0 6,3 10,6 4,9 6,5 6,5 (0,0

63,9 28,3 11,1 16,2 8,8 9,4 4,8 (0,0)

Corticium vagum

Nr. 20

12,0 15,0 17,6 20,9 26,8

Einfluß der Temperatur auf den Befall. Tabelle Virulenzversuch

Parasit

Tem- peratur

Anzahl pro Schale

In Prozenten der

Anzahl pro Schale

Prozenten der ...

Anzahl pro Schale

Kontrollen Prozenten

9

5

11,6±1,0 30,5±1,2 46,2±0,8 46,5±0,6 46,3±2,1 46,0±0,4 43,3±1,5 16,3±2,9

100,0 100,0 100,0 100,0 100,0 51,0

der

Anzahl pro Schale

In Prozenten der

In

Prozenten der

Boden erschienenen

Keimlinge

12

Kontrollen

Б

Versuchsdauer Tage

Boden erschiener

TOD

ಲ

Größe 8 cm erreicht

Nach 1,6 · z Tagen Anzahl Keimlinge

Versuchsabbruch

gesund

gesund

82

steigt die Zahl der Krankheitsfälle von 9 nach 30°C aber ständig an. Während der ganzen Versuchsdauer liegt das Maximum des Befalles bei der Temperatur 30° C. Gerade umgekehrt verhält sich der sehr virulente Stamm Corticium vagum Nr. 32, der unter Boden einen fortlaufend anwachsenden Befall von 9 nach 30°C verursacht. In der Stärke des Wurzelbrandes an den Keimpflanzen über Boden erfolgt indessen eine auffallende Verlagerung des Befallsmaximums von 30 nach 21 ° C. Stamm Nr. 32 äußert somit bei seiner Tätigkeit über Boden gleiches Verhalten wie die untersuchten Pythium de Baryanum-Stämme. Obschon das Optimum für das lineare Myzelwachstum von Corticium vagum annähernd 6°C tiefer liegt als dasjenige von Pythium de Baruanum, zeigt Corticium vagum bei tiefen Temperaturen (9 bis 12°C) doch allgemein schwächere Virulenz. Es scheint somit auch bei Corticium vagum kein enger Zusammenhang zwischen der Lage des Optimums der vegetativen Entwicklung des Wirtes noch des vegetativen Wachstums des Parasiten und dem Verlauf der Virulenzkurve zn bestehen.

#### b) Wachstumsversuche.

Die zweite Versuchsreihe zur Überprüfung des Einflusses der Temperatur auf den Befall besitzt eine andere Anordnung. Die Versuche wurden in großen Glasschalen (Größe 2) durchgeführt (S. 14). Kulturen keimten im gleichen Thermostatenraum bei konstanter, für die Fichte annähernd optimaler Temperatur. Die Belichtung der Kulturen erfolgte vom Austritt der Keimpflanzen aus dem Boden an. Unmittelbar nach dem Hervortreten sämtlicher Keimlinge infizierten wir alle Kulturen im selben Zeitpunkt durch Einbringen eines zirka 3 mm großen Stückes einer Reinkultur des Parasiten (Reisunterlage) in der Schalenmitte. Durch Einstecken eines kleinen Drahtstückes ließ sich die Infektionsstelle kenntlich machen. Je neun Schalen wurden sodann in die neun Thermostatenschränke mit konstanten Temperaturen von 9 bis 33° C gestellt. Die Temperaturstufe 33 °C konnte in die Wachstumsversuche miteinbezogen werden; bei den Virulenzversuchen war dies nicht möglich, da die Fichtensaaten bei dieser Temperatur nicht keimten. Von der Verwendung von Kontrollkulturen durfte abgesehen werden, da die Saaten aller Serien bei derselben Temperatur vorkeimten. Thermisch bedingte Unterschiede im Keimerfolg sind somit ausgeschlossen.

Die Aufgabe der Wachstumsversuche besteht darin, festzustellen, welche Bedeutung dem linearen Myzelwachstum beim Befall zukommt. Infolge der Punkt-Infizierung der Kulturen besteht keine andere Infektionsmöglichkeit, als daß der Parasit den Wirt durch Myzelwachstum erreicht. Da infolge geringer Saatdichte eine Berührung benachbarter Keimpflanzen in der Regel nicht vorkam und erkrankte, umfallende Keimpflanzen täglich entfernt wurden, war Übertragung des Pilzes unmittelbar von

68 Conrad Roth:

Keimling zu Keimling ausgeschlossen. Das Auftreten von Infektionen kann als Beweis dafür angesehen werden, daß sich die Parasiten von der Infektionsstelle aus auf oder im Boden ähnlich wie auf künstlichem festen Nährsubstrat auszubreiten vermögen. Tatsächlich ergeben die Versuche vom Impfpunkt aus zentrifugal fortschreitenden Befall. Im Gegensatz zu den Virulenzversuchen, bei denen das Myzelwachstum vermutlich nur eine untergeordnete Rolle spielt, kommt bei den Wachstumsversuchen sowohl dem Myzelwachstum als auch der Virulenz Bedeutung zu. Primäre Wichtigkeit besitzt das vegetative Wachstum, das die örtliche Vereinigung von Wirt und Parasit ermöglicht. Von dem Augenblick an, in dem der Parasit die ganze Oberfläche eines bestimmten Gebietes durch vegetatives Wachstum erobert hat, wird der Wachstumsversuch zum Virulenzversuch. Die anfänglich vorherrschende Bedeutung des linearen Myzelwachstums bei Parasiten mit rascher vegetativer Entwicklung wird abgelöst durch die später ausschlaggebende Virulenz.

Aus den Unterschieden, die in der Anlage der Wachstums- und Virulenzversuche bestehen, läßt sich ihre besondere Bedeutung für die Abklärung praktischer Fragen der Ausbreitung der Parasiten und des Auftretens von Wurzelbrandepidemien erkennen.

Die Ermittlung des Befalles erfolgte nach zwei Gesichtspunkten. Tägliche Messung des Abstandes des äußersten befallenen Keimlings vom Infektionszentrum ergab den maximalen Wachstumsstand des Parasiten. In Wirklichkeit ist der Pilz in seinem linearen Wachstum um diejenige Strecke voraus, die er in der Inkubationszeit zurückzulegen vermag. Die tägliche Auszählung der Krankheitsfälle liefert ein klares Bild über die totale Auswirkung des Befalles auf der Fläche. Die zentrifugale Entwicklung des Pilzes von einem Punkt aus hat zur Folge, daß die Zahl der vom Parasiten erreichten Keimlinge mit dem Quadrat der Entfernung der Wachstumslinie vom Zentrum zunimmt, bis der Pilz die ganze Fläche überwachsen hat. Bei Erreichung des Schalenrandes wird der regelmäßige Fortlauf des Myzelwachstums abgebremst. Vom Zeitpunkt an, wo bei der Kultur (einer Serie) mit raschester Entwicklung des Pilzes der Befall den Schalenrand erreicht hat, sind deshalb in den Tabellen die Zahlen der Abstandsmessuugen eingeklammert und die Wachstumskurven gestrichelt weitergeführt.

Trotz möglichst steriler Versuchsbedingungen konnte auch bei den Wachstumsversuchen nicht vermieden werden, daß unter dem Einfluß konstanter hoher Versuchstemperaturen (33 und 30°C) nach einer gewissen Zeit neben dem durch die verwendeten Parasiten verursachten Befall Fremdinfektionen auftraten. Der offensichtlich auf Fremdinfektion zurückzuführende Abgang an Keimpflanzen wurde nicht in die Befallszahlen der Versuche miteingeschlossen. Trotzdem kann die Möglichkeit nicht sicher von der Hand gewiesen werden, daß die Ergebnisse der beiden höchsten

Temperaturserien in ihrem zweiten Teil vielleicht durch Fremdbefall mitbeeinflußt sind.

Aus versuchstechnischen Gründen erfolgte bei der Durchführung der Wachstumsversuche Beschränkung auf die beiden Stämme Pythium de Baryanum Nr. 5 und Corticium vagum Nr. 32. Beide Stämme sind schweizerischer Herkunft. Sie haben bei den Wachstumsversuchen auf Malzagar-Nährboden rasches Myzelwachstum gezeigt und bei den Virulenzversuchen hohe Pathogenität gegenüber dem Wirt ergeben. Es bestand die Absicht, auch Fusarium bulbigenum v. blasticola Nr. 72 zu Wachstumsversuchen heranzuziehen. Aus bestimmten, an späterer Stelle dargelegten Gründen mußte jedoch auf die Durchführung dieses Versuches verzichtet werden.

Die Ergebnisse des Wachstumsversuches mit Pythium de Baryanum Nr. 5 können aus den Tabellen 20, 21 und den Abb. 25 bis 27 entnommen werden. Das lineare Fortschreiten der Befallslinie erfolgt anfänglich am

Tabelle 20.

Einfluß der Temperatur auf den Befall durch Pythium de Baryanum Nr. 5.

Wachstumsversuch. Dauer der Vorkeimung 12 Tage, bei 20,8°C.

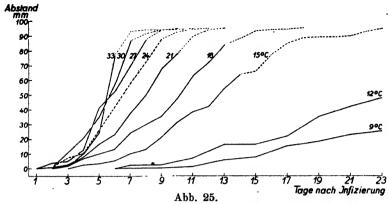
Entfernung des äußersten befallenen Keimlings vom Infektionszentrum, in Millimetern.

Tempe-					Anzahl T	'age nach	Infizier	ang			
•C	8	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23
8,8 12,1 15,1 17,6 20,8 24,1 26,9 30,0 33,0	5 <u>±2</u> 11 <u>±</u> 8	3±2 10±3 17±3 26±4 41±5 85±6 25±5	2±1 10±2 24±3 38±5 58±3 71±4 (87±3) (98±2)¹	2±1 21±4 35±8 68±3 (88±3) (94±1) (94±1) (94±1)	1±1 7±3 38±4 68±4 (90±2) (95±0) (95±0) (95±0) (95±0)	6±2 16±5 54±6 84±4 (95±0) —	8±3 16±5 66±6 (93±1) — — —	15±5 22±7 (85±5) (94±1) — — —	18±6 35±9 (89±4) (95±0) — — —	23± 7 42±10 (90± 8)	25± 7 48±11 (95± 0)

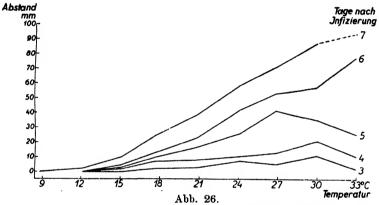
Tabelle 21.
. Gleicher Versuch wie Tabelle 20.
Zahl der getöteten Keimlinge in Prozenten der totalen Keimlingszahl.

Temperatur		Anzahl Tage nach Infizierung									
°C	8	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23
8,8 12,1 15,1 17,6 20,8 24,1 26,9 80,0 88,0	  1±0 1±0 0±0 1±0 0±0			3+1 5+1 19+2 84+3 58+6 68+7 74+81		1+0 2+1 14+2 29+2 65+4 74+6 79+5 95+3 98+31	1+0 2+1 20+4 41+3 81+3 80+6 82+4 88+3 96+21	2+1 4+1 31+5 52+4 89+1 84+5 83+4 89+2 97+1	3+1 5+2 42+6 65+5 91+1 85+4 84+4 90+2 98+1	4+1 9+3 51+6 75+4 91+1 86+4 84+4 90+2 98+1	4+1 11+4 62+8 79+4 92+1 86+4 84+4 90+2 98+1

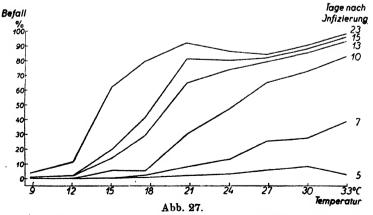
Nicht zuverlässig wegen Fremdbefalls.



Einfluß der Temperatur auf den Befall von Pythium de Baryanum Nr. 5. Wachstumsversuch. Maximaler Abstand der Befallslinie vom Infektionszentrum.



Einfluß der Temperatur auf den Befall durch Pythium de Baryanum Nr. 5. Wachstumsversuch. Maximaler Abstand der Befallslinie vom Infektionszentrum.



Einfluß der Temperatur auf den Befall durch Pythium de Baryanum Nr. 5. Wachstumsversuch. Befall in Prozenten der totalen Keimlingszahl.

raschesten bei 30°C, d. h. der optimalen Myzelwachstums-Temperatur auf festem künstlichen Nährboden. Auf eine vorübergehende Verlagerung des Wachstumsoptimums am fünften Tage nach 27°C folgt rasches Emporschnellen der Wachstumsgeschwindigkeit bei 30 und 33°C, so daß die Wachstumskurve von 9 nach 33°C ständig ansteigt (Abb. 26). Das Maximum des zahlenmäßigen Befalles liegt bis zum fünften Tage bei der Temperaturstufe 30°C, wird dann aber nach 33°C verlegt. Erst nachdem das Pilzmyzel fast die ganze Bodenfläche überzogen hat, vermag sich das für Pythium de Baryanum festgestellte Virulenzoptimum geltend zu machen, so daß der Endbefall bei 21°C größer ist als bei 24 bis 30°C (Abb. 27). Nur bei Temperaturen unter 12°C ist das vegetative Wachstum des Parasiten so gering, daß 22 Tage nach der Infizierung noch keine  $10^{\circ}/_{\circ}$  der Keimpflanzen getötet sind.

Das aus dem Wachstums-Infektionsversuch ermittelte Wachstumsoptimum von Corticium vagum Nr. 32 fällt nach den in den Tabellen 22,

Tabelle 22.

Einfluß der Temperatur auf den Befall durch Corticium vagum Nr. 32.

Wachstumsversuch. Dauer der Vorkeimung 12 Tage bei 22,0°C.

Entfernung des äußersten befallenen Keimlings vom Infektionszentrum, in Millimetern.

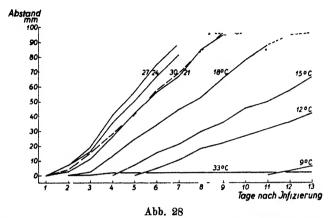
Tem-	Anzahl Tage nach Infizierung											
tur • C	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	18
28.9	7 + 1	11 + 2 $16 + 1$	35 + 2	24 + 2 $42 + 1$ $50 + 2$	15 + 2 $34 + 1$ $56 + 1$ $66 + 1$	44 ∓ 1 66 + 1 81 + 3	$\begin{array}{c} 29 + 1 \\ 52 + 2 \end{array}$	$ \begin{array}{c} - \\ 22 + 1 \\ 35 + 2 \\ 65 + 1 \\ 94 + 1 \\ (95 + 0) \end{array} $	45 🛨 2	31 ± 1 49 ± 2 87 ± 2	57 🛨 2	6 ± 2 41 ± 2 65 ± 2 (95 ± 0)
30,0	4 ± 1 0 ± 1	15 I 1	99 II 1	41 II 1	57 II 1	$68 \mp 2$	84 + 3	$     \begin{array}{c}                                     $	$     \begin{array}{c}       - \\       (95 \pm 0) \\       2 \pm 1     \end{array} $	$\frac{}{2\pm 1}$	2 ± 1	2 ± 1

Tabelle 23.
Gleicher Versuch wie Tabelle 22.
Zahl der getöteten Keimlinge in Prozenten der totalen Keimlingszahl.

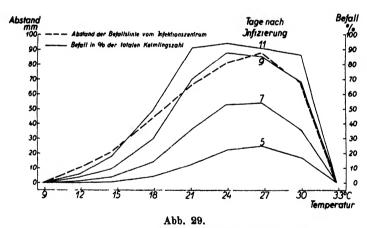
Tem-		Anzahl Tage nach Infizierung											
pera- tur • C	2	3	4	5	6	7	8	.9	10	11	12	18	
8,8 11,9 14,5 17,9 21,1 23,9 26,8 80,0 82,8	$     \begin{array}{c}       1 & \pm & 0 \\       1 & \pm & 0 \\       1 & \pm & 0     \end{array} $	2 ± 0 8 ± 1 3 ± 1 0 ± 1	14 I 1	18 + 1 22 + 1 95 + 9	2 + 1 10 + 1 23 + 1 87 + 1 38 + 2 27 + 1 0 + 0	14 <del>+</del> 1 36 <del>+</del> 1 58 <del>+</del> 3 54 <del>+</del> 4	8 ± 1 22 ± 2 58 ± 1 74 ± 8 74 ± 3	10 ± 1 30 ± 1 70 ± 2 88 ± 2 85 ± 2	14 ± 1 37 ± 1 85 ± 1 92 ± 2	18 + 1 49 + 2 91 + 1 94 + 1	28 + 1 68 + 8 91 + 1 94 + 1	10 ± 1 28 ± 1 74 ± 3 94 ± 1 95 ± 1	

62 Conrad Roth:

23 und Abb. 28, 29 enthaltenen Angaben eindeutig auf die Temperatur 27°C. Der zahlenmäßig stärkste Befall kommt bei den Temperaturstufen 24 bis 27°C vor. Das anfänglich durch das Myzelwachstum bedingte, in der Nähe von 27°C liegende Befallsmaximum scheint sich später unter dem Einfluß der Virulenz nach 24°C zu verschieben. Beidseitig der Tem-



Einfluß der Temperatur auf den Befall durch Corticium vagum Nr. 32.
Wachstumsversuch. Maximaler Abstand der Befallslinie vom Infektionszentrum.



Einfluß der Temperatur auf den Befall durch Corticium vagum Nr. 32. Wachstumsversuch. Maximaler Abstand der Befallslinie vom Infektionszentrum, sieben Tage nach Infizierung. Befall in Prozenten der totalen Keimlingszahl. Zeitpunkt verschieden.

peraturspanne 21 bis 30 °C nimmt die Zahl der Krankheitsfälle rasch ab. Die Temperatur 15 °C bewirkt innerhalb 11 Tagen nach erfolgter Infektion noch 18 °/0 Befall.

Die mit Fusarium bulbigenum v. blasticola und Fusarium moniliforme durchgeführten Virulenzversuche haben auf die lange Inkubationszeit (mindestens 16 Tage) und auf die geringe Virulenz bei tiefen Temperaturen

aufmerksam gemacht. In einem Tastversuch wurden Böden von ganz verschiedener Herkunft und mit verschiedenen physikalischen und chemischen Eigenschaften als Grundlage für Infektionsversuche verwendet. Es gelang indessen nicht, bei einer Temperatur von 27° eine Inkubationszeit von weniger als zehn Tagen zu ermitteln. In einem weiteren Tastversuch, der bei konstanter Temperatur von 25° C auf dem normalen Versuchsboden durchgeführt wurde, erfolgte Punktinfizierung inmitten vorgekeimter Fichtenkulturen. Nach 18 tägiger Inkubationszeit zeigten sich erstmals Erkrankungen an Keimpflanzen (Stengelfuß). Der Befall trat indessen von Anfang an nicht nur in der Nähe der Impfstelle auf, sondern über die ganze Fläche verstreut. Daraus muß der Schluß gezogen werden, daß offenbar die lange Inkubationszeit den Einfluß des Myzelwachstums auf den Befall vollständig zu verwischen vermag. Die Durchführung von Wachstums-Infektionsversuchen mit Fusarien ist somit ausgeschlossen. Die Virulenzversuche mit Fusarium bulbigenum und Fusarium moniliforme haben annähernde Übereinstimmung der Temperatur mit stärkstem Befallsvorkommen (30 ° C) und der Optimaltemperatur des linearen Myzelwachstums (27 ° C) pachgewiesen. Die Annahme ist deshalb berechtigt, daß bei diesen Arten auch bei Vorhandensein eines punktförmigen Infektionszentrums die rascheste Ausbreitung des Parasiten und der stärkste Befall in der Nähe von 30° C auftritt.

Wir machten seinerzeit darauf aufmerksam, daß dem vegetativen Myzelwachstum auch in den Virulenzversuchen eine gewisse Bedeutung zukommt. Da der Parasit bei Flächeninfizierung der Kulturen doch eine kleine Strecke vegetativ wachsen muß, bis er den Wirt angreifen kann, und zu dessen Zerstörung ebenfalls vegetative Wachstumsvorgänge notwendig sind, ist die Vermutung naheliegend, daß die Ergebnisse der Virulenzversuche nicht ausschließlich durch die Virulenz bestimmt worden sind. Innerhalb der Temperaturspanne mit bedeutendem Myzelwachstum (18 bis 30°C) spielt dieses beim Zustandekommen der Befallsunterschiede vermutlich keine bedeutende Rolle. Da hingegen das Myzelwachstum durch tiefe Temperaturen sehr stark gehemmt wird, mag es dort weit stärkeren Einfluß auf die festgestellten Unterschiede in den Befallsstärken ausgeübt haben.

Wir haben die Möglichkeit, in den Wachstums-Infektionsversuchen überlegungsmäßig den Einfluß des Wachstums auf den Befallsvorgang auszuschalten. Dies geschieht in der Weise, daß der Befall bei allen Temperaturstufen für gleichen Entwicklungsstand der gegen den Rand der Kulturen vorrückenden Befallslinie festgestellt wird. Allerdings darf der Abstand des äußersten befallenen Keimlings vom Infektionszentrum nicht als genauer Ausdruck der Lage der ganzen Befallslinie aufgefaßt werden. Der mögliche Fehler dürfte indessen bei allen Versuchsserien ungefähr gleich groß sein. Die Tatsache, daß die wirkliche Wachstumsfront

des Parasiten um den durch die Inkubationszeit verursachten Abstand vorauseilt, ist für die Untersuchung belanglos. Auch die unterschiedliche Geschwindigkeit, mit der der Pilz bei verschiedenen Temperaturen linear wächst, übt auf die Größe des Befalles innerhalb der Befallslinie keinen Einfluß aus. Wenn die Virulenz nicht von der Temperatur abhängig wäre, müßten die so berechneten Befallsgrößen aller Temperaturserien gleich sein. Umgekehrt kann aus der unterschiedlichen Zahl der Krankheitsfälle auf entsprechende Virulenz-Unterschiede geschlossen werden.

Tabelle 24.

Die Virulenz in ihrer Abhängigkeit von der Temperatur.

Befall in Prozenten der totalen Keimlingszahl, bezogen auf gleichen Stand der Befallslinie.

r .	Mittlerer maximaler Abstand der Befallslinie vom Infektionszentrum in Millimetern										
Tempe- ratur	Pyt	hi»m de B	aryanum 1	Vr. 5	Corticium vagum Nr. 32						
°C	5	20	40	65	5	20	40	65			
9 12 15 18 21 24 27 30 33	$\begin{array}{c} 0.8 \pm 0.4 \\ 0.8 \pm 0.4 \\ 0.4 \pm 0.2 \\ 0.8 \pm 0.2 \\ 0.7 \pm 0.2 \\ 0.6 \pm 0.1 \\ 0.5 \pm 0.2 \\ 0.4 \pm 0.1 \\ 0.4 \pm 0.2 \\ \end{array}$	$\begin{vmatrix} 3,1 \pm 1,3 \\ 3,1 \pm 0,7 \\ 2,0 \pm 0,5 \\ 3,2 \pm 0,7 \\ 2,3 \pm 0,4 \end{vmatrix}$	$\begin{array}{c} 6,6 \pm 0,9 \\ 8,8 \pm 1,7 \\ 5,3 \pm 0,8 \\ 5,5 \pm 1,2 \\ 9,6 \pm 2,6 \end{array}$	19,7±3,6 16,9±1,7 18,4±2,1 17,3±1,8 21,2±3,7 18,1±4,0	$egin{array}{c} 0.5 & \pm 0.2 \\ 0.7 & \pm 0.3 \\ 0.8 & \pm 0.2 \\ 0.8 & \pm 0.2 \\ 0.7 & \pm 0.2 \\ \end{array}$	$ \begin{vmatrix} 3,7 + 0,6 \\ 3,4 + 0,5 \\ 4,8 + 0,4 \\ 4,7 + 0,6 \\ 4.8 + 0.8 \end{vmatrix} $	$12.5 \pm 1.1$	$egin{array}{c} 27,9 \pm 1,0 \\ 29,7 \pm 1,4 \\ 34,8 \pm 1,0 \\ 35,7 \pm 1,3 \\ 31.7 \pm 2.0 \\ \end{array}$			

Tabelle 24 gibt eine Zusammenfassung der Befallszahlen der beiden Stämme Pythium de Baryanum Nr. 5 und Corticium vagum Nr. 32, bezogen auf entsprechende Befallslinien, für die Abstände 5, 20, 40 und 65 mm vom Infektionszentrum. Da der Einfluß des Myzelwachstums bei der Berechnung ausgeschaltet wurde, wären in diesen Ergebnissen, die als unmittelbarer Ausdruck der Virulenz zu werten sind, andersgeartete Unterschiede zu erwarten als bei den früheren Virulenzversuchen. Tabelle 24 enthaltenen Befallsstärken weisen nur geringe Unterschiede in der Virulenz nach. Wie oben dargelegt wurde, sind in den Virulenzversuchen die Virulenzgrößen für die Temperaturstufen mit nicht zu stark gehemmtem Myzelwachstum offenbar richtig ermittelt worden. Die geringen Unterschiede, die sich aus den Wachstumsversuchen ergeben, zeigen jedoch, daß die Virulenz nach der Seite der tiefen Temperaturen nicht in dem Maße abfällt, wie die Virulenzversuche ergeben haben, Es scheint vielmehr die Virulenz von Pythium de Baryanum Nr. 5 von 18 nach 9°C anzusteigen. Obschon aus den vorliegenden Mittelwerten gewisse Gesetzmäßigkeiten und auffallende Übereinstimmungen mit dem Verlauf der entsprechenden Kurven der Virulenzversuche ersehen werden können, so dürfen sie doch nicht zu bindenden Schlüssen verwendet werden, da die mittleren Abweichungen der Serien zu groß sind, um die bestehenden

Unterschiede sicherzustellen. Dagegen mußaus sämtlichen Zahlenreihen der Schluß gezogen werden, daß die bedeutenden, thermisch bedingten Unterschiede, die beim Befall von Fichtenkulturen durch Pythium de Baryanum und Corticium vagum festgestellt worden sind, nur in geringem Maße durch die Virulenz verursacht sind. Dem vegetativen Wachstum des Parasiten kommt weitaus größere Bedeutung zu. Diese Feststellung wird durch die Tatsache bestätigt, daß die Befallskurven der Wachstums-Infektionsversuche eine auffallende Übereinstimmung mit dem Verlauf der Kurven des linearen Myzelwachstums aufweisen. Tatsächlich vermag sich der Einfluß der Virulenz erst von dem Zeitpunkte an gelegentlich bemerkbar zu machen, wo der Parasit die ganze Bodenoberfläche besetzt hat und dem vegetativen Wachstum infolgedessen geringere Bedeutung zukommt.

Die Wachstums-Infektionsversuche liefern Angaben über die Geschwindigkeit des linearen Fortschreitens des Befalles auf der Fläche und damit auch über die Größe des Myzelwachstums bei verschiedenen Temperaturen auf dem verwendeten Versuchsboden. Im Hinblick auf die unmittelbare Bedeutung der Ausbreitung der Parasiten für die Entstehung von Wurzelbrandepidemien wurden die aus den Wachstumsversuchen sich ergebenden Messungen in Tabelle 25 zusammengefaßt. Den Einfluß der Virulenz auf die Distanz-Ermittlungen schalteten wir dadurch aus, daß die Berechnungen nur auf die Zeit nach dem Auftreten des ersten Befalles bezogen wurden. Es zeigt sich, daß die Wachstumsgeschwindigkeit von Pythium de Baryanum Nr. 5 durch tiefe Temperaturen erheblich rascher abgebremst wird als diejenige von Corticium vagum Nr. 32. Die vergleichende Gegenüberstellung

Tabelle 25. Einfluß der Temperatur auf den linearen Fortschritt des Befalles.

Zeitliches Auftreten des Befalles in 20 und 50 mm Entfernung vom Infektionszentrum.
 Mittlerer täglicher Fortschritt der Befallslinie.

ium de Baryanum Nr. 5	Corticiu	m vagum	Pythium	0 "	
	N	. 32	de Baryanum	Corticium vagum Nr. 32	
mm Bei 50 mm	Bei 20 mm	Bei 50 mm	Nr. 5		
8 28,7 8 13,1 6 10,2 5 8,0 6,5 2 5,8		14,5 11,1 7,8 5,6 5,0 4,6 5.6	1,6 2,8 6,2 7,9 9,9 12,4 13,9	2,8 5,2 7,8 10,6 13,0 14,5 16,2 12,9	
	7 (>50,0) 8 28,7 8 13,1 6 10,2 5 8,0 6 6,5	7 (>50,0) — 8,5 8 13,1 6,9 10,2 4,7 5 8,0 3,6 6 6,5 3,2 2 5,8 3,0 9 5,7 3,4	$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	7 (>50,0) — — — — — — — — — — — — — — — — — — —	

der Wachstumsgeschwindigkeiten der Parasiten auf dem Versuchsboden und auf Malzagar-Nährboden (Tabelle 12) ergibt, daß Pythium de Baryanum Nr. 5 auf dem Versuchsboden bei optimaler Temperatur (27°C) rund dreimal, bei 9°C rund achtmal langsamer wächst als auf Malzagarunterlage. Die Wachstumsgeschwindigkeit von Corticium vagum Nr. 32 wird unter entsprechenden Umständen nur 1 bis 1¹/2 mal verzögert. Pythium de Baryanum ist somit viel empfindlicher gegenüber den Einflüssen der Unterlage als Corticium vagum.

Im Hinblick auf die oben gemachten Feststellungen fällt es auf, daß Pythium de Baryanum Nr. 5 bei tiefen Temperaturen trotz der bedeutend herabgesetzten Wachstumsfähigkeit stärkeren Befall zu verursachen vermag als Corticium vagum Nr. 32 (Tabellen 16, 19, 21, 23). Da der Befall bei den höheren Temperaturen ungefähr gleich groß ist, müssen die beiden Arten bei sinkender Temperatur stark verschiedenen oder sogar entgegengesetzten Verlauf der Virulenzstärken aufweisen. Diese Schlußfolgerungen werden unzweifelhaft durch die in Tabelle 24 enthaltenen Mittelwerte bestätigt, indem sie für Corticium vagum schwach fallende Virulenz von 30 gegen 9° C nachweisen, für Pythium de Baryanum dagegen schwach steigende oder mindestens gleichbleibende Virulenz von 18 gegen 9° C angeben.

### c) Schlußfolgerungen.

Die Stärke des Wurzelbrandes an Fichtensaaten und -Keimpflanzen, verursacht durch Pythium de Baryanum, Fusarium bulbigenum v. blasticola. Fusarium moniliforme und Corticium vagum, ist in hohem Maße von der Temperatur abhängig. In den durchgeführten Versuchen wurden Bodenund Lufttemperatur gleich gehalten.

Die Infektionsversuche haben ergeben, daß dem linearen Myzelwachstum der Parasiten bei der Verursachung des Wurzelbrandes große Bedeutung zukommt. Der Einfluß der thermisch bedingten unterschiedlichen Virulenz ist gering. Das vegetative Wachstum der Parasiten und die Virulenz können in ganz verschiedenen Abhängigkeitsverhältnissen zur Temperaturhöhe stehen. Stark verschiedene Lage von Virulenzoptimum und Optimum des linearen Myzelwachstums innerhalb derselben Art zeigen Pythium de Baryanum und in geringerem Maße Corticium vagum. Bei den Fusarien scheint dagegen annähernde Übereinstimmung zu herrschen. Wenn die Temperaturoptima des vegetativen Wachstums und der Virulenzstärke verschiedene Lage aufweisen, so wirken für das Auftreten und die Stärke des Wurzelbrandes nicht während des ganzen Epidemieverlaufes dieselben Temperaturgrade in gleichem Maße begünstigend. Im ersten Zeitabschnitt ist die Temperatur von hauptsächlicher Bedeutung für das vegetative Wachstum des Parasiten (Ausbreitung), im zweiten Zeitabschnitt für den Ablauf des Infektionsvorganges (Virulenz). Bei einzelnen Arten (Pythium de Baryanum) liegt die Temperatur, die die stärkste Virulenz verursacht, tiefer als das Temperaturoptimum für das lineare Myzelwachstum. Daraus läßt sich die Beobachtung erklären, warum in Pflanzgärten nach Warmwetterperioden, die von den Parasiten zur vegetativen Ausbreitung benutzt werden, Wurzelbrand bei relativ niedrigen Temperaturen auftreten kann.

Die einzelnen Pilzarten zeigen grundsätzliche Unterschiede in ihrer Abhängigkeit von der Temperatur. Pythium de Baryanum und Corticium vaqum verursachen nur oberhalb 15° C schwere Wurzelbrandschäden. Die Fusarien bewirken starken Befall erst bei Temperaturen über 21 bis 24° C. Unter dem Einfluß tiefer Temperaturen erweist sich Pythium de Baryanum als gefährlicherer Parasit als Corticium vagum, namentlich da Puthium auch bedeutende Keimverluste unter Boden verursachen kann. Oberhalb 30°C treten diese beiden Pilzarten in ihrer Wirksamkeit rasch zurück, da einerseits die Virulenz von Pythium de Baryanum erheblich abnimmt (Optimum 21 ° C) und andererseits Corticium vagum im vegetativen Wachstum stark gehemmt ist (Optimum 24° C). Bei Temperaturen über 30° C können namentlich die Fusarien als Wurzelbrandparasiten von Bedeutung sein. Da sie für die Abtötung von Keimpflanzen eine mindestens zehntägige Inkubationszeit benötigen, so können sie schwere Wurzelbrandschäden nur verursachen. wenn ein längerer Zeitraum mit hoher Bodentemperatur zur Verfügung steht.

# C. Der Einfluß der Wasserstoffionen-Konzentration des Bodens auf den Befall.

Hartley (1921) macht auf die Abhängigkeit der Befallsstärke von der Azidität des Bodens aufmerksam. Er ermittelt einen offensichtlichen Zusammenhang zwischen dem Säuregrad der Böden in Pflanzgärten und der Heftigkeit des Befalles, indem er nachweist, daß die Befallsstärke mit steigender Wasserstoffionen-Konzentration von pH 5,0 bis 8,5 ständig zunimmt. Hartley stellt fest, daß bei einem stärkeren Säuregrad als pH 6,0 der Wurzelbrand an Nadelholzsaaten nicht bedeutend ist. Die Beobachtungen beziehen sich vermutlich vorwiegend auf Saaten der Gattung Pinus.

# a) Virulenzversuche.

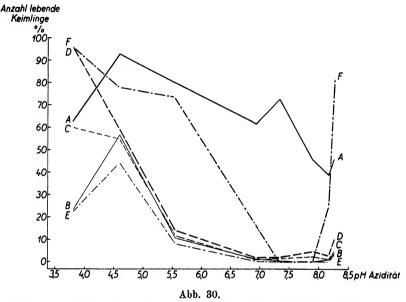
Diese Versuchsreihe beschränkt sich auf einen einzigen Infektionsversuch mit Corticium vagum Nr. 32. Auf entsprechende Versuche mit Pythium de Baryanum und Fusarium-Arten mußte verzichtet werden. Die gemachten Erfahrungen lassen jedoch die Ausführung von entsprechenden Versuchen als wünschenswert erscheinen.

Die Durchführung des Infektionsversuches mit Corticium vagum Nr. 32 erfolgte nach den oben (S. 43) dargelegten Grundsätzen und Versuchs-

Tabelle 26. Einfinß der Azidität des Bodens auf den Befall durch Corticium vagum Nr. 32. Virulenzversuch. Konstante Temperatur 22,4 °C. Versuchsdauer 20 Tage.

Infizierte Kulturen	Nicht infizierte Kontrollkulturen	-	Se	rie		
3,72 4,52 5,62 7,02 7,90 8,19 8,40	3,72 4,52 5,62 7,02 7,24 7,90 8,19 8,40	22	Vor Versuch	μď	des Bodens	Azidität
3,91 4,66 5,49 6,85 7,43 7,91 8,16 8,16	3,91 4,66 5,49 6,85 7,43 7,91 8,16 8,16	သ	Nach Versuch		odens	ität
$27,6 \pm 1,6$ $40,4 \pm 1,4$ $55,4 \pm 2,1$ $28,0 \pm 0,8$ $34,4 \pm 1,6$ $40,4 \pm 1,6$ $40,4 \pm 1,6$ $40,7 \pm 1,6$ $40,$	44,0 + 1,9 43,5 + 1,6 44,2 + 1,7 45,0 + 3,6 47,3 + 1,1 46,0 + 1,6 46,0 + 1,6 40,8 + 1,6	4	Anzahl pro Schale	Total		
$\begin{array}{c} 62,7 + 3,7 \\ 93,0 + 3,2 \\ 80,1 + 4,8 \\ 62,2 + 1,8 \\ 72,9 + 2,0 \\ 46,2 + 1,6 \\ 46,1 + 2,4 \\ 46,1 + 2,4 \end{array}$		5	In Prozenten der Kontrollen	tal	Über Boden	
5,4 + 0,5 $23,0 + 1,5$ $4,2 + 1,3$ $0,6 + 0,9$ $0,2 + 0,2$ $0,4 + 0,0$ $0,4 + 0,3$ $1,1 + 0,3$	23,2 40,5 11,9 38,8 40,6 41,8 41,8 42,7 41,8 45,8 45,8 45,8 45,8 45,8 45,8 45,8 45	6	Anzahl pro Schale	Über 3 c	Boden erschienen	
23,3 56,8 10,8 3,6 1,4 0,4 0,0 1,0 0,0 1,0 1,0 1,0 1,0 1,0		7	In Prozenten der Kontrollen	cm groß		
$\begin{array}{c} 26,4 & + 1,4 \\ 23,9 & + 1,5 \\ 5,1 & + 1,5 \\ 0,5 & + 0,3 \\ 0,7 & + 0,3 \\ 1,0 & +$	44,0 43,5 1,6 44,2 1,7 45,0 3,6 47,3 1,1 44,8 2,3 46,0 1,6 47,3 1,1 1,6	æ	Anzahl pro Schale			Anz
$\begin{array}{c} 60,0 \\ 55,0 \\ 3,8 \\ 11,6 \\ 3,5 \\ 1,1 \\ 1,05 \\ 1,5 \\ 0,7 \\ 2,2 \\ 0,8 \\ 1,1 \\ 0,0,5 \\ 0,7 \\ 0,8 \\ 0,9 \\$		9	In Prozenten der Kontrollen	Total		Anzahl Keimlinge
95,9 1,8 59,2 14,4 3,4 1,8 1,8 2,0 2,0 1,9 1,9 1,9 1,9 1,9 1,9 1,9 1,9 1,9 1,9	100,0 100,0 100,0 100,0 100,0 100,0 100,0	10	In Prozenten der üher Boden erschienenen Keinlinge		Bei Versuchsa	ge
5,2 ± 0,5 17,9 ± 1,1 3,1 ± 1,0 0,1 ± 0,1 0,0 ± 0,0 0,1 ± 0,0 0,1 ± 0,1 0,9 ± 0,3	23,2 + 1,1 40,5 + 1,9 88,8 + 0,6 41,8 + 2,7 45,8 + 1,3 39,2 + 2,3 40,2 + 0,5 31,5 + 0,9	11	Anzahl pro Schale		Versuchsabbruch gesun	
$\begin{array}{c} 22,4 & \pm 2,1 \\ 44,2 & \pm 2,7 \\ 8,0 & \pm 2,9 \\ 0,2 & \pm 0,2 \\ 0,0 & \pm 0,0 \\ 0,0 & \pm 0,0 \\ 0,0 & \pm 0,0 \\ 0,0 & \pm 0,2 \\ 2,9 & \pm 1,1 \end{array}$		12	In Prozenten der Kontrollen	Über 3 cm	nd	
96,9 0,7 77,9 2,9 73,8 11,6 16,7 16,0 0,0 0,0 0,0 0,0 25,0 7 81,8 15,8	100,0 100,0 100,0 100,0 100,0 100,0 100,0	13	In Prozenten der über Boden erschienenen Keimlinge	groß		

anordnungen. Die in kleinen Glasschalen keimenden Fichtenkulturen wurden bei der Saat auf der ganzen Bodenoberfläche infiziert. Jede Versuchsserie umfaßte acht infizierte Kulturen und vier Kontrollen. Um Fremdbefall durch *Penicillium* oder Bakterien auszuschließen, wurde eine Versuchstemperatur von 22,4° C verwendet. Da durch die unterschiedliche Azidität der Versuchsserien offenbar kein zeitlich verschiedener Entwicklungsstand der Keimpflanzen verursacht wird, erfolgte der Versuchsabbruch gleichzeitig.



Einfluß der Azidität des Bodens auf den Befall durch Corticium vagum Nr. 32. Virulenzversuch.

- A: Gesamtzahl der über Boden erschienenen Keimlinge.
- B: Anzahl der Keimlinge, die die Größe von 3 cm erreichten.
- C: Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge.
- D: Gesamtzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge, bezogen auf die Anzahl der über Boden erschienenen Keimlinge derselben Infektionsserie.
- E: Anzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge mit über 3 cm Größe.
- F: Anzahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimlinge mit über 3 cm Größe, bezogen auf die Gesamtzahl der Keimlinge, die die Größe von 3 cm bei derselben Infektionsserie erreichten.

Die Versuchsresultate sind in Tabelle 26 und Abb. 30 zusammengestellt. In der Auswirkung des Befalles unter Boden (Keimverlust) und des Befalles über Boden (Keimlingsschädigung) bestehen grundsätzliche Unterschiede. Am kompliziertesten äußert sich das Zusammenspiel von Virulenz und Widerstandsfähigkeit in Kurve A der Abb. 30, die die Gesamtzahl der über Boden erschienenen Keimlinge wiedergibt. Ein auffälliges Zwischenmaximum des Befalles liegt beim Säuregrad pH 7,0. Wie wir später nachweisen werden, ist es durch das an dieser Stelle auf-

tretende Virulenzmaximum bedingt. Von diesem Punkt aus nimmt der Befall ab, und zwar sowohl in der Richtung über das Entwicklungsoptimum des Wirtes hinaus bis pH 4,5, als auch nach der basischen Seite bis pH 7,3. Dann schnellt aber der Befall nach beiden Seiten der Aziditätsskala wieder empor, offenbar verursacht durch die bei extremen Säurewerten verminderte Widerstandsfähigkeit des Wirtes. Die starke Pathogenität, die Corticium vagum über Boden zur Geltung bringt, vermag das ursprünglich ausgeprägte Befallsminimum (pH 4.6) in der Gesamtzahl der Keimlinge, die bei Versuchsabbruch gesund sind (Kurve C), zum Verschwinden zu bringen. Der Grund ist darin zu suchen, daß der Aziditätsgrad pH 3,8 praktisch keinen Befall über Boden zuläßt. Das erwähnte Befallsminimum bleibt jedoch in den Kurven B und E bestehen, da die Keimpflanzen mit kräftigerer Entwicklung (über 3 cm Größe) auch auf einem Boden mit einem Säuregrad von pH 4.5 bedeutende Widerstandskraft besitzen. Geringere Wasserstoffionen-Konzentrationen als pH 4.5 verursachen über Boden, auch bei den gut entwickelten Keimpflanzen mit über 3 cm Größe, rasch ansteigende Zahl der Krankheitsfälle. Eine Azidität von pH 5,6 ermöglicht einen Befall von rund 90%, eine solche von pH 6,9 annähernd 100%. von pH 7,9 nach pH 8,4 macht sich in sämtlichen Kurven ein deutliches Nachlassen der Befallsstärke bemerkbar. Bezieht man den Befall über Boden nicht auf die Keimzahlen der Kontrollkulturen, sondern auf die Anzahl der im betreffenden Infektionsversuch tatsächlich über Boden erschienenen Keimpflanzen, so zeigt sich, daß der Gesamtbefall (Kurve D) von pH 3,8 nach pH 6,9 ständig ansteigt; von pH 7,3 nach pH 8,4 erfolgt geringe Abnahme der Zahl der getöteten Pflanzen. Die Keimlinge mit über 3 cm Größe besitzen ausgeprägtere Widerstandsfähigkeit (Kurve F), indem von pH 3,5 nach pH 5,5 die Zahl der gesunden Keimpflanzen nur langsam abnimmt; erst von pH 5,5 an erfolgt rascher Absturz der Kurve. Innerhalb des Säurebereiches pH 7,3 bis 7,9 beträgt die Zahl der Krankheitsfälle annähernd 100%. Von pH 7,9 gegen pH 8,3 wächst die Zahl der bei Versuchsabbruch gesunden Keimpflanzen mit über 3 cm Größe sehr rasch wieder an.

# b) Wachstumsversuche.

Entsprechend den früheren Angaben (S. 57) wurden die Versuche in großen Schalen durchgeführt und die Kulturen erst nach Austritt der Keimpflanzen aus dem Boden infiziert. Jede Versuchsserie beider Versuche setzte sich aus zehn Kulturen zusammen.

Der Wachstums-Infektionsversuch mit Pythium de Baryanum Nr. 5 (Tabellen 27, 28, Abb. 31) weist übereinstimmendes Verhalten des linearen Befallsfortschrittes und der zahlenmäßigen Befallstärke nach. Das Maximum des Befalles wird durch den Säuregrad pH 6,7 hervorgerufen, Angleicher Stelle befindet sich auch das seinerzeitermittelte Optimum des vege-

tativen Myzelwachstums. Vom Aziditätsgrad pH 6,7 an nimmt die Ausbreitungsgeschwindigkeit des Befalles nach beiden Seiten der Säureskala rasch ab. Nur extrem hohe Azidität vermag jedoch innerhalb des Wachstumbereichs der Fichte das Wachstum des Parasiten und den Befall annähernd zu verunmöglichen. Auf der basischen Seite ist eine völlige Befallsverhinderung ausgeschlossen, weil die Wachstumsgrenze des Parasiten weiter gesteckt ist als die normale Entwicklungsgrenze des Wirtes. Übersteigt der Säuregrad des Bodens die Wasserstoffionen-Konzentration pH 5,5, so ist die Ausbreitung des Befalles bedeutend erschwert. Die auffallend starke Befallsminderung durch den Aziditätsgrad pH 5,5, die einen schroffen Unterbruch der gegen die saure Seite absinkenden Befallskurve zur Folge hat, ist unzweifelhaft durch das an dieser Stelle liegende Entwicklungsoptimum des Wirtes verursacht.

Aus den für gleichen Entwicklungsstand der Befallslinie berechneten Befallszahlen (Tabelle 31) läßt sich ersehen, daß die Virulenz von *Pythium de Baryanum* Nr. 5 nach beiden Seiten des auf den Säuregrad pH 6,7 ent-

Tabelle 27.

Einfluß der Azidität des Bodens auf den Befall durch Pythium de Baryanum Nr. 5.

Wachstumsversuch. Konstante Temperatur 20,4° C.

Alter der Keimpflanzen bei der Infektion 11 Tage.

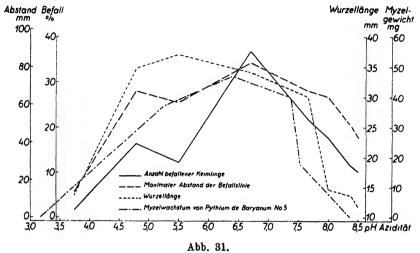
Entfernung des äußersten befallenen Keimlings vom Infektionszentrum, in Millimetern.

Azidit	ät pH								
Vor Versuch	Nach Versuch	8	4	5	6	7	8	9	10
3,64	3,85	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 1 25 ± 4	7 ± 2	6 ± 3 40 ± 2	$\begin{array}{c} 9 \pm 3 \\ 51 \pm 3 \end{array}$	12 + 8 56 + 3 52 + 5 72 + 6 57 + 4 50 + 6 39 + 4	18 ± 4
4,63	4,95	0 ± 0	10 1 3	25 + 4	85 = 8	40 + 2	$\frac{51 + 3}{40 + 3}$	56 + 3	67 ± 5 61 ± 5 88 ± 4 68 ± 4
5,35	5,63	0 ± 0	6 + 2	20 ± 4	23 = 3	33 = 8	43 = 5	52 士 5	61 + 5
6,87	7,02	$12 \pm 2$	17 主 3	29 🛨 3	87 <del>∓</del> 8	49 🛨 4	57 ± 4	$72 \pm 6$	$83 \pm 4$
7,46	7,86	0 ± 0	$8\pm 2$	14 + 2	22 <del>+</del> 3	30 ± 4	57 ± 4 45 ± 2	57 + 4	68 + 4
7,77	8,21	$ \begin{array}{c cccc}  & 12 & \pm 2 \\  & 0 & \pm 0 \\  & 2 & \pm 1 \end{array} $	8 <del>+</del> 2 7 + 2	14 + 3	20 7 3	27 + 5	39 7 6	50 <del>千</del> 6	64 + 5
8,50	8,26	0 + 0	4 + 2	18 🕂 3	18 7 3	26 <del>+</del> 3	33 <del>T</del> 3	39 7 4	50 <del>丁</del> 5
8,73	8,26	0±0	5 ± 2	7 主 2	14 - 3	20 ± 4	26 <del>+</del> 4	86 🛨 4	42 + 5

. Tabelle 28.
Gleicher Versuch wie Tabelle 27.
Zahl der getöten Keimlinge in Prozenten der totalen Keimlingszahl.

Azidi	tät pH		Anzahl Tage nach Infizierung							
Vor Versuch	Nach Versuch	3	4	5	6	. 7	8	9	10	
3,64	3,85	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,8 ± 0,2	$0.7 \pm 0.8$	0,8 ± 0,8	1,0 ± 0,8	1,3 ± 0,5	$1,5 \pm 0,5$	
<b>4,6</b> 8 5,85	4,95 5,68	10,0 ± 0,0 10,0 ± 0,0	1,0 ± 0,4	$2.8 \pm 0.7$	$\frac{4,1}{28} + \frac{0,9}{4}$	$ \begin{array}{ c c c c c c c c c c c c c c c c c c c$	$ \begin{vmatrix} 9,1 + 1,7 \\ 5,0 + 1,8 \end{vmatrix} $	$12,4 \pm 2,2$	16,4 + 2,7 $12,2 + 2,5$	
6,87	7.02	$1,5 \mp 0,4$	2,4 + 0,4	4,9 = 0,8	$7,5 \pm 1,1$	11,4+1,7	$16.8 \pm 2.8$	24,3 + 3,8	86,9 = 5,3	
7,46	7,86	$0.0 \pm 0.0$	$0.7 \pm 0.2$	$1.2 \pm 0.8$	2.3 + 0.4	$4,7 \pm 0,8$	8.4 + 1.4	14.4 + 8.8	21.8 + 3.0	
7,77	8,21	$0,2 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,8$	$1,1 \pm 0,3$	$2,0 \pm 0,4$	4,1 王 1,1	$6,8 \pm 1,7$	$11,2 \pm 2,8$	$17,7 \pm 3,6$	
8,50	8,26	$0,0 \pm 0,0$	$0.4 \pm 0.2$	$1,1 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,8$	2,4 = 0,6	4,8 1,1	$8,2 \pm 1,8$	11.5 2,7	
8,78	8,26	$0.0 \pm 0.0$	$0.4 \pm 0.3$	0,7 ± 0,2	$1.8 \pm 0.8$	2,7 = 0,6	4,5 1,0	$6,9 \pm 1,5$	10,2 = 2,5	

fallenden Maximismus gegen pH 7,7 und pH 5,5 plötzlich abfällt. Von pH 5,5 an erfolgt langsamer Anstieg der Virulenz gegen die saure Seite hin. Offenbar infolge der durch hohe Azidität stark verminderten Wachstumsfähigkeit des Parasiten vermag sich der Einfluß der steigenden Virulenz in der Befallskurve nur bis pH 4,8 geltend zu machen. In entsprechender Weise kommt es bei extrem basischen Böden außerhalb des Wertes pH 8,3 trotz steigender Virulenz nicht zu vermehrtem Befall.



Einfluß der Azidität des Bodens auf den Befall durch Pythium de Baryanum Nr. 5.

Wachstumsversuch. Alter der Keimlinge bei der Infektion 11 Tage. Maximaler Abstand der Befallslinie vom Infektionszentrum, 10 Tage nach Infizierung. Befall in Prozenten der totalen Keimlingszahl, 10 Tage nach Infizierung.

Wurzellänge der nicht infizierten Keimlinge.

Corticium vagum Nr. 32 (Tabelle 29, 30, Abb. 32) zeigt im entsprechenden Wachstums-Infektionsversuch ähnliches Verhalten gegenüber der Bodenazidität wie Pythium de Baryanum Nr. 5. Maximale lineare Ausbreitung und stärkster zahlenmäßiger Befall liegen auch hier an gleicher Stelle (pH 7,8). Vom Befallsmaximum nach beiden Seiten der Säureskala erfolgt eine rasche Verminderung der Geschwindigkeit der Befallsausbreitung und Abnahme der Befallszahlen. Wasserstoffionen-Konzentration über pH 5,5 hemmen die Ausbreitung des Parasiten in hohem Maße. Der Säuregrad pH 3,8 verunmöglicht, wie sich schon aus dem Virulenzversuch ergab, jeglichen Befall. Da aber das vegetative Wachstum von Corticium vagum Nr. 32 selbst durch einen Säuregrad von pH 3,2 nicht vollständig verhindert werden kann (Tabelle 14), schließt vermutlich die fortgesetzt sinkende Virulenz des Parasiten (Tabelle 31) das Auftreten des Befalles aus. Im Gegensatz dazu scheint die von pH 8,0 gegen pH 8,3 stark ansteigende Virulenz die Ausbreitung des Pilzes zu begünstigen und

eine weitere Abnahme der Zahl der Krankheitsfälle zu verhindern. Diese Erscheinung, deren Sicherheit nicht nachgeprüft werden kann, steht nicht in Übereinstimmung mit den entsprechenden Feststellungen des Virulenzversuches.

Die für Corticium vagum Nr. 32 aus dem Wachstumsversuch berechneten, auf gleichen Stand der Befallslinien bezogenen Befallszahlen (Tabelle 31) weisen ein ausgesprochenes Virulenzoptimum für den Säurebereich **pH 6,8 bis 7,4** nach. Von hier aus fällt die Virulenz nach beiden Seiten stetig ab. Ein starker Wiederanstieg, offenbar verursacht durch die Schwächung des Wirtes, tritt erst mit dem extrem basischen Säuregrad pH 8,3 in Erscheinung.

# c) Schlußfolgerungen.

Die auffallende Übereinstimmung der Befallskurven der Wachstumsversuche mit den Kurven des vegetativen Myzelwachstums läßt erkennen,

Tabelle 29.

Einfluß der Azidität des Bodens auf den Befall durch Corticium vagum Nr. 32.

Wachstumsversuch. Konstante Temperatur 20,8° C.

Alter der Keimpflanzen bei der Infektion 11 Tage.

Entfernung des äußersten befallenen Keimlings vom Infektionszentrum, in Millimetern.

Azidit	ät pH		Anzahl Tage nach Infizierung							
Vor Versuch	Nach Versuch	5	6	7	8	9	10	11		
8,67	3,98	$ \begin{vmatrix} 0 \pm 0 \\ 0 \pm 0 \\ 0 \pm 0 \\ 20 \pm 3 \end{vmatrix} $	$ \begin{array}{c c} 0 \pm 0 \\ 3 \pm 2 \\ 16 \pm 3 \\ 35 \pm 1 \end{array} $	0 + 0	0±0	$ \begin{array}{c} 0 \pm 0 \\ 19 \pm 4 \\ 89 \pm 3 \\ 84 \pm 1 \\ 64 \pm 8 \\ 38 \pm 3 \end{array} $	0±0 20±4 48±5 94±1	0 ± 0 21 ± 4 56 ± 6 (95 ± 0) 87 ± 2 55 ± 5 50 ± 2		
4,52	4,73	0±0	3 ± 2	$ \begin{array}{c} 5 \pm 3 \\ 27 \pm 2 \end{array} $	$15\pm 3$	$19 \pm 4$	20 ± 4	$21 \pm 4$		
5,62	5,45	<b>  0±0</b>	$16 \pm 3$	$27 \pm 2$	$34 \pm 3$	$89\pm 3$	$48 \pm 5$	$56 \pm 6$		
7,02	5,45 6,54	$20 \pm 3$	$35 \pm 1$	152 + 2	$   \begin{array}{r}     34 \pm 3 \\     65 \pm 1   \end{array} $	$84 \pm 1$	94 ± 1	$(95 \pm 0)$		
7,24	7,57	13 + 2	$28\pm1$	37 + 2	$49 \pm 3$	64 + 8	73+2	87 + 2		
7,90	8,12	$\begin{vmatrix} 13 \pm 2 \\ 10 \pm 2 \end{vmatrix}$	$20 \pm 1$	$\begin{array}{c} 37 \stackrel{\top}{+} 2 \\ 25 \stackrel{\top}{+} 2 \end{array}$	32 + 2	38 + 3	48 + 4	55 十 5		
7,90 8,19	8.12	$12 \pm 1$	$20 \pm 1$	23 + 1	$     \begin{array}{r}       49 \pm 3 \\       32 \pm 2 \\       26 \pm 2     \end{array} $	35 ± 2	48 ± 4 46 ± 2	$50 \pm 2$		
8,40	8,12	$12 \pm 1$	$22\pm1$	$26\pm 2$	31 + 3	$42\pm1$	$46 \pm 2$	55 ± 4		

. Tabelle 30.

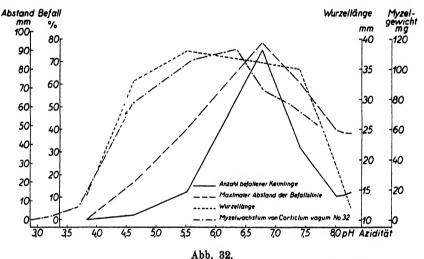
Gleicher Versuch wie Tabelle 29.

Zahl der getöteten Keimlinge in Prozenten der totalen Keimlingszahl.

Azidit	ät pH			Anzahl T	age nach l	nfizierung		
Vor Versuch	Nach Versuch	5 6 7 8		8	9	10	11	
8,67 4,52 5,62 7,02 7,24 7,90 8,19 8,40	3,98 4,78 5,45 6,54 7,57 8,12 8,12	$0.0 \pm 0.0$ $0.0 \pm 0.0$	$1.5 \pm 0.4$ $10.8 \pm 0.7$ $6.0 \pm 0.4$ $2.9 \pm 0.3$ $3.1 \pm 0.2$	$0.4 \pm 0.2$ $4.4 \pm 1.0$ $19.8 \pm 1.2$ $10.1 \pm 1.2$ $3.6 \pm 0.4$ $3.9 \pm 0.3$	$1,1 \pm 0,4$ $6,8 \pm 1,4$ $34,7 \pm 2,1$ $15,6 \pm 1,6$ $5,2 \pm 0,7$ $5,3 \pm 0,6$	$1,8 \pm 0,5$ $9,8 \pm 1,9$ $54,1 \pm 3,0$ $28,1 \pm 2,6$ $8,1 \pm 1,1$ $8,1 \pm 1,1$	$\begin{array}{c} 0.0 \pm 0.0 \\ 2.1 \pm 0.5 \\ 12.4 \pm 2.5 \\ 75.2 \pm 2.6 \\ 82.1 \pm 4.0 \\ 10.6 \pm 1.6 \\ 11.0 \pm 1.4 \\ 12.3 \pm 1.5 \end{array}$	90,5 ± 1,8 44,7 ± 5,0 15,1 ± 2,8 18,8 ± 1,6

daß die Azidität in erster Linie das vegetative Wachstum des Parasiten beeinflußt. Da der stärkenmäßige Verlauf des Infektionsvorganges nur teilweise mit den ermittelten Virulenzgrößen übereinstimmt, muß auch daraus geschlossen werden, daß die Virulenz nur in geringem Maße an der Bildung der durch verschiedene Säuregrade des Bodens verursachten bedeutenden Befallsunterschiede beteiligt ist.

Pythium de Baryanum Nr. 5 und Corticium vagum Nr. 32 besitzen übereinstimmende Lage der Maxima der Ausbreitungsgeschwindigkeit des Befalles und der Virulenzoptima bei einer Azidität des Bodens von pH 6,8. Innerhalb des Säurebereiches pH 5,5 bis 8,3 kann die Zahl der Krankheitsfälle 90% der totalen Keimlingszahl übersteigen. Das Verhalten der



Einfluß der Azidität des Bodens auf den Befall durch Corticium vagum Nr. 32.

Wachstumsversuch. Alter der Keimlinge bei der Infektion 11 Tage. Maximaler Abstand der Befallslinie vom Infektionszentrum, 10 Tage nach Infizierung. Befall in Prozenten der totalen Keimlingszahl, 10 Tage nach Infizierung.

Wurzellänge der nicht infizierten Keimlinge.

beiden Parasiten in bezug auf ihre pathogene Tätigkeit bei extremen Säuregraden ist ähnlich. Tabelle 32 weist nach, daß der Befall auf annähernd neutralem Boden etwas rascher fortschreitet, wenn er durch Corticium vagum Nr. 32 verursacht wird, als wenn Pythium de Baryanum Nr. 5 der Erreger ist. Mit zu- oder abnehmenden Säurewerten des Bodens wird indessen der Fortschritt des von Corticium vagum Nr. 32 hervorgerufenen Befalles wesentlich stärker verzögert. Während nämlich Pythium auf Boden mit dem Säuregrad pH 3,7 Wurzelbrand zu verursachen vermag, ist dies bei Corticium ausgeschlossen.

Die über Boden erschienenen Keimpflanzen der Fichte werden mit steigendem Säuregrad des Bodens in zunehmendem Maße gegen Wurzel-

brand durch Pythium de Baryanum und Corticium vagum geschützt. Nur Wasserstoffionen-Konzentrationen über pH 3,5 können jedoch den Befall vollständig verunmöglichen. Durch extrem basische Bodenwerte kann der Befall wohl geschwächt, aber keineswegs ausgeschlossen werden. Infolge der Wurzelschädigungen des Wirtes durch extreme Säurewerte des Bodens außerhalb des Raumes pH 4,6 bis 8,1, ergibt sich als praktisch verwendbare Spanne, die dem Wirt noch normale Entwicklung gestattet und gleichzeitig den Befall durch die Parasiten möglichst stark einschränkt, nur. ein enger Säurebereich um pH 4,6 herum. Der Raum zwischen pH 4,2 und 5,0 dürfte die erwähnten Bedingungen erfüllen. In hohem Grade ge-

Tabelle 31.

Die Virulenz in ihrer Abhängigkeit von der Azidität des Bodens.

Befall in Prozenten der totalen Keimlingszahl, bezogen auf gleichen Stand der Befallslinie.

Pyt	hi <b>u</b> m de B	aryanum N	Vr. 5	(	Corticium v	ayum Nr. 8	2	
Azidität im Mittel pH	vom	nd der Bef Infektionsz in Millimet	entrum	Azidität im Mittel pH	Abstand der Befallslinie vom Infektionszentrum in Millimetern			
	18	85	60	bir	20 85		50	
3,74 4,79 5,49 6,70 7,66 7,99 8,38 8,50	$\begin{vmatrix} 1,5 \pm 0,5 \\ 1,4 \pm 0,5 \\ 1,3 \pm 0,4 \\ 1,8 \pm 0,4 \\ 1,1 \pm 0,8 \\ 1,1 \pm 0,8 \\ 1,1 \pm 0,2 \\ 1,2 \pm 0,8 \end{vmatrix}$	$ \begin{vmatrix} 3,9 \pm 1,0 \\ 6,8 \pm 1,0 \\ 6,0 \pm 1,0 \\ 5,9 \pm 1,5 \\ 5,8 \pm 1,3 \end{vmatrix} $	13,9 ± 2,4 11,7 ± 2,4 18,3 ± 3,0 16,6 ± 2,5 15,7 ± 3,3	3,82 4,62 5,58 6,78 7,40 8,01 8,15 8,26	$ \begin{vmatrix} 0.0 \pm 0.0 \\ 2.1 \pm 0.5 \\ 2.5 \pm 0.6 \\ 3.9 \pm 0.6 \\ 3.9 \pm 0.4 \\ 2.8 \pm 0.3 \\ 1.5 \pm 0.2 \\ 3.8 \pm 0.6 \end{vmatrix} $	$ \begin{array}{c} - \\ 7,5 \pm 1,5 \\ 10,8 \pm 0,7 \\ 9,4 \pm 1,1 \\ 6,6 \pm 0,9 \\ 8,1 \pm 1,1 \\ 8,6 \pm 1,2 \end{array} $	18,2 + 2,6 18,9 + 1,2 16,2 + 1,7 12,0 + 1,8 18,0 + 1,6 18,6 + 1,6	

Tabelle 32.

# Einfluß der Azidität des Bodens auf den linearen Fortschritt des Befalles.

- Zeitliches Auftreten des Befalles in 15 bzw. 20 und 50 mm Entfernung vom Infektionszentrum.
- 2. Mittlerer täglicher Fortschritt der Befallslinie.

Pyti	hium de Ba	rya <b>nu</b> m N	r. 5		Corticium v	agum Nr. 8	32	
Azidität im Mittel pH	fall Tage nac	ı des Be- les. h Infizie- ng	Täglicher Fortschritt des Befalles	Azidität im Mittel pH	Tage nac	des Be- les. h Infizie- ng	Täglicher Fortschritt des Befalles	
	Bei 15 mm Bei 50 mm		mm		Bei 20 mm	mm		
3,74 4,79 5,49 6,70 7,66 7,99 8,88 8,50	11,4 4,8 4,7 8,7 5,1 5,2 5,4 6,2	7,9 8,8 7,2 8,4 9,0 10,0 11,2	2,1 9,6 9,2 10,1 9,8 9,0 7,6 <b>6</b> ,2	3,82 4,62 5,53 6,78 7,40 8,01 8,15 8,26	10,0 6,3 5,0 5,5 6,1 6,0 5,8	10,2 6,9 8,1 10,3 10,9 10,5	0,0 3,4 7,9 14,8 12,4 7,5 6,8 7,2	

fährdet werden die über Boden erschienenen Fichtensaaten erst durch geringere Säurewerte als pH 5,5.

Corticium vagum Nr. 32 äußert in der Befallstätigkeit unter Boden (Keimverlust) und über Boden (Keimlingszerstörung) nicht übereinstimmendes Verhalten gegenüber der Azidität. Unter Boden erfolgt schwächster Befall bei einem Säuregrad von pH 4,5. Kein Säuregrad ermöglicht Corticium vagum Nr. 32 die Verursachung eines Keimverlustes von mehr als 60% der Keimzahlen der nicht infizierten Kontrollen. Aus den oben gemachten Feststellungen ist der Schluß abzuleiten, daß unter Vermeidung von direkten Schädigungen an den Fichtenkeimlingen durch hohe Azidität Säuregrade von pH 4,2 bis 5,0 sowohl der Entstehung von Keimverlusten pilzparasitärer Natur als auch dem Wurzelbrand an älteren Keimpflanzen am stärksten entgegenzuwirken vermögen.

Da sich nach Sorauer (1928, 3. S. 764) das Optimum des vegetativen Wachstums von Fusarium moniliforme zwischen den Säurewerten pH 6,8 und 7,1 befindet, so dürfte dieser Wurzelbrandparasit im allgemeinen ähnliches Verhalten der Befallsstärke gegenüber der Azidität des Bodens äußern wie die untersuchten Wurzelbranderreger.

## D. Der Einfluß des Wassergehaltes des Bodens auf den Befall.

Eine Anzahl Beobachter (Hartig 1900, Baudisch 1903, Sorauer 1928) vertreten die Ansicht, daß hohe Bodenfeuchtigkeit das Auftreten des Wurzelbrandes begünstigt. Büttner (1903) stellt fest, daß der Wurzelbrand dann gefährliche Formen annimmt, "wenn nach einer Reihe feuchter Tage plötzlich starke Hitze eintritt". Hartley (1921, S. 76 bis 77) macht an Hand von Untersuchungen in Pflanzgärten die Beobachtung, daß die Befallsstärke durch das Eintreffen von Niederschlägen offensichtlich herabgesetzt wird und der Wurzelbrand erst mit sinkender Bodenfeuchtigkeit an Heftigkeit wieder zunimmt.

#### a) Virulenzversuche.

Diese Versuchsreihe umfaßt Infektionsversuche mit den Stämmen Pythium de Baryanum Nr. 1 und 5, Fusarium bulbigenum v. blasticola Nr. 72 und Corticium vagum Nr. 20 und 32. Jeder Versuch besteht aus vier Serien (zu je acht Kulturen) mit verschiedenem konstanten Wassergehalt des Bodens, ausgedrückt in Prozenten der absoluten Wasserkapazität. Jeder Infektionsserie sind vier Kontrollkulturen zugeteilt. Die Einzelheiten der Versuchsanordnung und -durchführung ergeben sich aus den früheren Angaben (S. 29, 45). Die Mitteltemperaturen der einzelnen Versuche liegen zwischen 26,0 bis 26,7 °C. Als Kulturgefäße wurden die kleinen Glasschalen

benutzt. Die Infizierung der ganzen Bodenoberfläche aller Kulturen mit Ausnahme der Kontrollen erfolgte gleichzeitig mit der Saat.

Aus den Resultaten der Virulenzversnche (Tabelle 33) lassen sich nicht ohne weiteres allgemeingültige Schlüsse über die Abhängigkeit des Wurzelbrandes vom Wassergehalt des Bodens ableiten. Es scheint, daß der Befall unter Boden (Keimverlust) und der Befall über Boden (Keimlingszerstörung) nicht in gleicher Weise vom Wassergehalt abhängig sind. Unter dem Einfluß der hochvirulenten Stämme erscheint eine so geringe Keimlingszahl über Boden, daß dadurch eine sichere Beurteilung der Befallsverhältnisse über Boden erschwert ist. Dazu kommt, daß die mittleren Abweichungen der Einzelwerte häufig so bedeutend sind, daß sie gegen die Nachbarwerte nicht gesichert erscheinen.

Geringer Boden-Wassergehalt wirkt offenbar allgemein hemmend auf die Befallstätigkeit von Pythium de Baryanum Nr. 1 und 5. Extrem hohe Bodenfeuchtigkeit vermag jedoch in gleicher Weise wie ausgesprochene Trockenheit die Kulturen vor vollständiger Vernichtung über Boden zu schützen. Die mittleren Feuchtigkeitsstufen verursachen somit an über dem Boden erschienenen Keimpflanzen die stärksten Verluste. Die Zahl der Krankheitsfälle an Keimpflanzen unter der Bodenoberfläche ist für den Stamm Nr. 1 im trockensten Boden offensichtlich am geringsten. Der Stamm Nr. 5 scheint in der Verursachung von Keimverlusten vom Wassergehalt des Bodens weitgehend unabhängig zu sein.

Fusarium bulbigenum v. blasticola Nr. 72 zeigt sich in bezug auf den Keimverlust in Boden mit einem Wassergehalt von 86°/0 am schwächsten virulent. Stärkste Pathogenität äußert dieser Stamm bei kleinster und größter Bodenfeuchtigkeit. Stärkster Befall an Keimpflanzen über Boden erfolgt dann, wenn ein Wassergehalt von 72 bis 86°/0 vorliegt.

Corticium vagum Nr. 20 bewirkt mit steigendem Wassergehalt zunehmende Befallsstärke. Stamm Nr. 32 zeigt anfänglich bei den mittleren Feuchtigkeitsstufen schwächere Befallstätigkeit; später scheinen sich die Verhältnisse jedoch umzukehren.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß ein Wassergehalt von 100 bis 108% der absoluten Wasserkapazität bei sämtlichen untersuchten Pilzstämmen den Befall an Keimpflanzen unter Boden (Keimverlust) am stärksten begünstigt. Einzelne Stämme verursachen in extrem trockenem Boden (50% Wassergehalt) größere Keimverluste als in Böden mit 72 bis 86% Wassergehalt. Ganz verschieden ist das Verhalten der Stämme und Arten in ihrer Befallstätigkeit an Keimpflanzen, die über der Bodenoberfläche erschienen sind.

# b) Wachstumsversuche.

Diese Versuchsreihe umfaßt zwei Versuche mit den hochvirulenten Stämmen Pythium de Baryanum Nr. 5 und Corticium vagum Nr. 32. Die

Kulturen der vier Serien (zu je zehn Stück) keimten alle einheitlich mit einem Boden-Wassergehalt von 50 %. Im Augenblick der Infizierung der Kulturen in der Schalenmitte besaßen somit die Keimpflanzen aller Serien gleiche Eigenschaften. Erst im Infektionszeitpunkt wurde der Wassergehalt

Tabelle 33

Einfluß des Wassergehaltes des Bodens

	Ī	Ī	1			Anzahl
	stur	rehali	Uher Boden	erschienen	Größe von 3	cın erreicht
Parasit	- l'emperatur	~ Wavsergehalt	Anzahl pro Schale	In Prozenten der Kontrollen	Anzahl pro Schale	In Prozenten der Kontrollen
1	2	3	4	5	6	7
Kontrollen zu  Pythum de Baryanum und Corticium ragum	26,4	50,7 72,3 86,6 108,2	$\begin{array}{c} 43.8 \pm 0.5 \\ 42.8 \pm 0.7 \\ 32.2 \pm 2.5 \\ 4.5 \pm 0.9 \end{array}$		$   \begin{array}{r}     838 & + & 1,8 \\     38,0 & + & 0,9 \\     25,5 & + & 1,7 \\     4,2 & + & 0,6   \end{array} $	
Pythrum de Baryanum Nr 1	26,6	50,7 72,3 86,6 108,2	$18,2 + 1,9 \\ 7,0 + 0,7 \\ 4,9 + 0,7 \\ 0,6 + 0,4$	30,2 16,4 15,2 13,4	$   \begin{array}{c}     3,9 + 0,9 \\     1,5 + 0,3 \\     1,0 + 0,3 \\     0,1 + 0,1   \end{array} $	11,6 4,0 3,9 2,4
Pythum de Baryanum Nr 5	26,0	50,7 72,3 86,6 108,2	$9,1 \pm 0,8$ $7,4 \pm 1,2$ $5,9 \pm 0,6$ $0,9 \pm 0,4$	20,8 17,3 18,4 20,0	$\begin{array}{c} 0.9 \pm 0.4 \\ 0.9 \pm 0.4 \\ 0.7 \pm 0.3 \\ 0.1 \pm 0.1 \end{array}$	2,7 2,4 2,7 2,4
Cortscrum vagum Nr 20	26,5	50,7 72,3 86,6 108,2	36,9 + 0,9  37,4 + 1,2  29,4 + 1,1  0,6 + 0,5	84,2 87,5 91,2 13,3	$   \begin{array}{c}     18,5 \pm 0,9 \\     11,0 \pm 1,5 \\     8,0 \pm 0,6 \\     0,1 \pm 0,1   \end{array} $	39,9 28,9 31,4 2,4
Corticium vagum Nr. 32	26,7	50,7 72,8 86,6 108,2	$18,5 \pm 2,0$ $25,0 \pm 1,8$ $18,6 \pm 1,9$ $1,1 \pm 0,8$	42,2 58,5 57,9 24,4	$1,9 \pm 0,7$ $2,3 \pm 0,8$ $1,0 \pm 0,4$ $0,1 \pm 0,1$	5,6 6,1 3,9 <b>2,4</b>
Kontrollen zu Fusarıum bulbıgenum v blastıcola	26,6	50,7 72,3 86,6 100,9	$44,0 \pm 0,5  43,0 \pm 0,7  27,0 \pm 2,5  9,0 \pm 0,8$		$89,0 \pm 1,8$ $41,0 \pm 0,9$ $24,0 \pm 1,7$ $8,0 \pm 1,6$	
Fusarum bulbıgenum v blasticola Nr. 72	26,6	50,7 72,3 86,6 100,9	27,7 + 1,2 $34,2 + 1,5$ $26,2 + 1,2$ $2,9 + 0,9$	68,0 79,7 97,0 82,2	$14,1 \pm 1,4$ $16,4 \pm 1,9$ $10,8 \pm 1,8$ $1,0 \pm 0,7$	86,2 40,0 45,0 12,5

von drei Serien entsprechend erhöht. Die Feuchtigkeitsgrade stimmen mit denen der Virulenzversuche nicht genau überein. Die Resultate lassen sich aber trotzdem vergleichen, da die Unterschiede nicht von großer Bedeutung sind.

auf den Befall. Virulenzversuche.

Nac	ch x Tagen ge	sund	Bei V	ersuchsabbruch	gesund
Anzahl pro Schale	In Prozenten der Kontrollen	In Prozenten der ubei Boden erschienenen Keimlinge	Auzahl pro Schale	In Prozenten der Kontrollen	In Prozenten der über Boden erschienenen Keimlinge
8	9	10	11	12	18
2	3 Tage nach S	Saat			
43.8 + 0.5 $42.8 + 0.7$ $32.2 + 2.5$ $4.5 + 0.9$		100,0 100,0 100,0 100,0	$\begin{array}{c} 43,8 \pm 0,5 \\ 42,8 \pm 0,7 \\ 32,2 \pm 2,5 \\ 4,5 \pm 0,9 \end{array}$		100,0 100,0 100,0 100,0
13 T	age nach Infi	zierung			
7.6 + 1.4 $2.1 + 0.8$ $1.0 + 0.4$ $0.5 + 0.1$	17,4 4,9 3,1 11,1	57,6 30,0 20,3 83,3	$\begin{array}{c} 0.2 & \pm & 0.2 \\ 0.1 & \mp & 0.1 \\ 0.0 & \mp & 0.0 \\ 0.1 & \pm & 0.1 \end{array}$	0,5 0,2 0,0 2,2	15,2 1,4 0,0 16,7
10 T	age nach Infi	zierung			
6,6+1,0 $3,5+0,6$ $2,9+0,7$ $0,4+0,4$	15,1 8,2 9,0 8,9	72,7 47,8 49,2 44,5	$\begin{array}{c} 0,0 + 0,0 \\ 0,0 + 0,0 \\ 0,0 + 0,0 \\ 0,1 + 0,1 \end{array}$	0,0 0,0 0,0 2,2	0,0 0,0 0,0 11,1
23 T	age nach Infi	zierung			
$16,4 \pm 1,6$ $14,5 \pm 1,7$ $12,5 \pm 1,8$ $0,0 \pm 0,0$	37,4 38,9 38,8 0,0	44,5 38,8 42,5 0,0	$3,5 \pm 0,8$ $2,1 \pm 0,9$ $1,4 \pm 0,6$ $0,0 \pm 0,0$	8,0 4,9 4,3 0,0	9,5 5,6 <b>4</b> ,8 0,0
13 T	age nach Infi	zierung			
$8,1 \pm 1,4$ $11,6 \pm 1,5$ $10,1 \pm 1,6$ $0,6 \pm 0,8$	18,5 27,2 31,4 18,4	43,8 46,8 54,8 54,6	$0.8 \pm 0.4$ $1.8 \pm 0.8$ $0.9 \pm 0.8$ $0.1 \pm 0.1$	1,8 4,2 2,8 2,2	4,8 7,2 4,8 9,1
2	8 Tage nach 8	Saat			
$44,0 \pm 0,5$ $48,0 \pm 0,7$ $27,0 \pm 2,5$ $9,0 \pm 0,8$		100,0 100,0 100,0 100,0	$\begin{array}{c} 21,5 \pm 1,0 \\ 36,0 \pm 0,8 \\ 21,5 \pm 1,6 \\ 6,0 \pm 0,7 \end{array}$		48,9 83,9 79,8 66,7
	age nach Infi	zierung			
$   \begin{array}{c}     10.6 \pm 1.7 \\     10.9 \pm 1.2 \\     5.9 \pm 0.7 \\     1.1 \pm 0.7   \end{array} $	24,1 25,8 21,8 12,2	38,8 31,8 22,5 37,9	$\begin{array}{c} 2,2 \pm 0,7 \\ 2,0 \pm 0,6 \\ 1,2 \pm 0,4 \\ 0.3 \pm 0,3 \end{array}$	10,2 5,5 5,6 5,0	8,0 5,8 <b>4</b> ,6 10,3

Der Wachstumsversuch mit Pythium de Baryanum Nr. 5 (Tabellen 34. 35: Abb. 33 bis 36) liefert den Nachweis, daß der durch diesen Parasiten hervorgerufene Befall sich in Boden mit einem Wassergehalt von 67%, eindeutig am raschesten ausbreitet. Derselbe Wassergehalt verursacht auch die größte Zahl der Krankheitsfälle. Ein Wassergehalt von 100% wirkt auf den Fortschritt der Befallslinie und auf das Ansteigen der Befallszahlen in hohem Maße hemmend ein, und zwar ebenso stark wie der trockenste Boden mit 50% Wassergehalt. Eigenartigerweise macht sich der stark erhöhte Fortschritt des Befalles bei 67 und 84 % Wassergehalt erst vom fünften Tage an bemerkbar. Aus den Tabellen 38 und 39 ergibt sich die Tatsache, daß durch extrem hohe Bodenfeuchtigkeit nicht nur die lineare Wachstumsfähigkeit des Parasiten stark herabgesetzt wird, sondern daß auch die Virulenz eine erhebliche Schwächung erfährt. Eine augenscheinliche Dämpfung der Virulenz wird durch eine Bodenfeuchtigkeit von 67°/0 bedingt. Es ist naheliegend, darin den Einfluß der optimalen Entwicklung des Wirtes bei diesem Wassergehalt zu sehen. Aus der Tatsache, daß der Verlauf des Gesamtbefalles nicht mit dem Verlauf der berechneten Virulenzgrößen übereinstimmt, muß geschlossen werden, daß offenbar die Virulenz bei unterschiedlichem Wassergehalt des Bodens gegenüber dem vegetativen Wachstum des Parasiten von relativ geringer Bedeutung ist.

# Tabelle 34. Einfluß des Wassergehaltes des Bodens auf den Befall durch *Pythium de Baryanum* Nr. 5.

Wachstumsversuch. Konstante Temperatur 22,5 ° C.

Alter der Keimpflanzen bei der Infektion 13 Tage, Entfernung des äußersten befallenen Keimlings vom Infektionszentrum, in Millimetern.

Wassergehalt		Anzahl Tage nach Infizierung								
<u>%</u>	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
50,7	$1\pm 1$	$2 \pm 1$	$10 \pm 1$	$19 \pm 3$	$24 \pm 4$	$24 \pm 4$	$\frac{34 \pm 6}{32}$	$45 \pm 7$	48 ± 8	$58 \pm 10$
67, <b>3</b> 8 <b>4</b> ,2		8 + 2 8 + 2	14 ± 2	$24 \pm 2$ $25 \pm 8$	$\frac{42 \pm 5}{85 \pm 2}$	50 = 5	$58 \pm 6$	76 ± 4 74 ± 6		$93 \pm 2$ $89 \pm 4$
100,9	8 7 1	9 + 3	11 7 3	16 + 3	19 开 8	24 7 5	$84 \mp 7$	36 干 7	<b>48</b> 干 7	<b>48</b> $\mp$ <b>7</b>

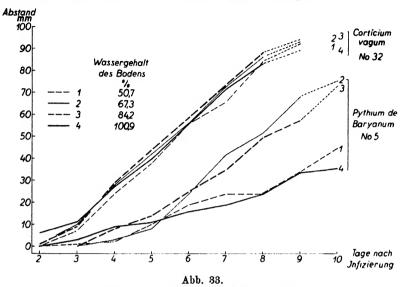
Tabelle 35.

Gleicher Versuch wie Tabelle 34.

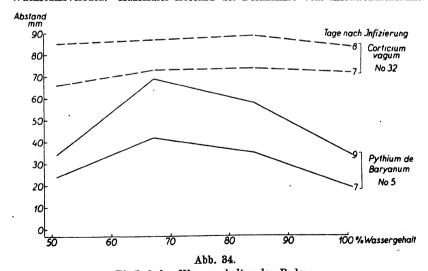
Zahl der getöteten Keimlinge in Prozenten der totalen Keimlingszahl.

Wasser- gehalt		'Anzahl Tage nach Infizierung											
%	8	4	5	-6	7	8	9	10	11	12			
50,7	0,2±0,1	0,3+0,2	1,1+0,4	2,0+0,6	3,3+1,2	3,9+1,4	5,9+2,0	8,8+2,4	12,6+3,6	16,6+4,4			
67,3	0.0+0.0	0,3+0,2	1.2 + 0.4	13.4 + 0.8	7.0 + 1.3	11.8 + 1.9	17.5 + 2.5	24.1 + 3.8	34.1 + 4.8	44.4-4.8			
84,2	0,1+0,1	0,9+0,8	2,1+0,5	$4.1 \pm 0.7$	$6.7 \pm 1.2$	11,9+2,1	$16,0 \pm 2,8$	$22,5 \pm 3,9$	<b>80.0干4.7</b>	87,6±5,5			
100,9	0,5±0,8	1,2±0,3	1,5 = 0,4	2,0±0,4	2,7±0,6	<b>3,4</b> <u>∓</u> 0,9	4,4-1,0	5,3 1,8	7,8 1,7	8,1 1,9			

Corticium vagum Nr. 32 (Tabellen 36, 37; Abb. 33 bis 36) zeichnet sich während des ganzen Versuches bei allen Serien durch fast gleich große Geschwindigkeit des linearen Befallsfortschrittes aus. Die Kulturen mit extremem Wassergehalt des Bodens zeigen wie im Versuch mit Pythium de Baryanum etwas geringere Wachstumsgeschwindigkeit als die mittleren

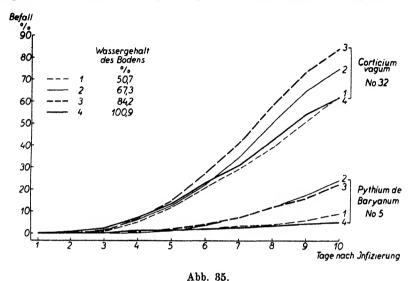


Einfluß des Wassergehaltes des Bodens auf den Befall durch Pythium de Baryanum Nr. 5 und Corticium vagum Nr. 32. Wachstumsversuch. Maximaler Abstand der Befallslinie vom Infektionszentrum.

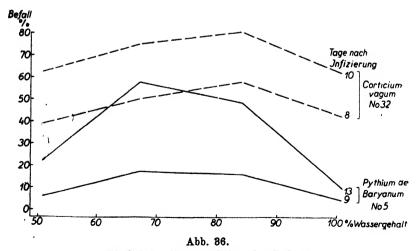


Einfluß des Wassergehaltes des Bodens auf den Befall durch *Pythium de Baryanum* Nr. 5 und *Corticium vagum* Nr. 32. Wachstumsversuch. Maximaler Abstand der Befallslinie vom Infektionszentrum.

Serien. Rascheste Ausbreitung des Wurzelbrandes bewirkt ein Wassergehalt von 84°/0. Tabelle 39 bestätigt die Tatsache, daß die hohe Wachstumsfähigkeit von Corticium vagum Nr. 32 durch Veränderung des Wassergehaltes des Bodens kaum geschwächt werden kann. Dagegen wird das lineare Wachstum von Pythium de Baryanum Nr. 5 durch extreme Feuchtigkeitsgrade des Bodens auf 1/2 bis 1/8 seiner Maximalgröße herabgesetzt. Im



Einfluß des Wassergehaltes des Bodens auf den Befall durch Pythium de Baryanum Nr. 5 und Corticium vagum Nr. 32. Wachstumsversuch. Befall in Prozenten der totalen Keimlingszahl.



Einfluß des Wassergehaltes des Bodens auf den Befall durch Pythium de Baryanum Nr. 5 und Corticium vagum Nr. 32. Wachstumsversuch. Befall in Prozenten der totalen Keimlingszahl.

Gegensatz zu den geringen Unterschieden, die in der linearen Wachstumsfähigkeit von Corticium vagum Nr. 32 zum Ausdruck kommen, zeigen sich in der zahlenmäßigen Befallsstärke der verschiedenen Serien zeitlich zunehmende bedeutende Unterschiede. Mit steigendem Wassergehalt von 50 auf 84%, wächst die Zahl der Krankheitsfälle, sinkt aber von 84 nach 100 % sehr rasch wieder, so daß der Befall hier annähernd gleich stark ist wie beim trockensten Boden. Das unterschiedliche Verhalten von Befallsfortschritt und Befallsstärke gegenüber dem Wassergehalt des Bodens läßt darauf schließen, daß die Virulenz bei den einzelnen Serien stark verschieden ist. Nähere Überprüfung der Virulenzverhältnisse (Tabelle 38) ergibt, daß die Virulenz im ersten Teil des Versuches bei den extremen Feuchtigkeitsgraden eher größer zu sein scheint als bei den mittleren. Diese Beobachtung stimmt mit den im Virulenzversuch mit demselben Pilzstamm (Corticium vagum Nr. 32) gemachten Feststellungen des Befalles unter Boden überein. Die Virulenzverhältnisse verändern sich aber offensichtlich, wenn die Befallslinie einen gewissen Abstand (50 mm) vom Infektionszentrum erreicht hat. Die Virulenz steigt dann von 50 bis 84% Wassergehalt des Bodens ständig an und fällt von 84 nach 100% wieder stark ab.

Ob die erwähnte Umstellung der Virulenz nach bestimmter Zeit wie die nachträgliche Differenzierung des Befallfortschrittes von *Pythium de Baryanum* auf eine allmählich erfolgende Anpassung des Wirtes an die extremen Feuchtigkeitsverhältnisse oder auf eine zunehmende Schwächung des Parasiten zurückzuführen ist, kann nicht entschieden werden.

Tabelle 36.

Einfluß des Wassergehaltes des Bodens auf den Befall durch Corticium vagum Nr. 32.

Wachstumsversuch. Konstante Temperatur 22,8°C.

Alter der Keimpflanzen bei der Infektion 13 Tage. Entfernung des äußersten befallenen Keimlings vom Infektionszentrum, in Millimetern.

Wasser- gehalt		Anzahl Tage nach Infizierung												
<u> </u>	2.	8	4	5	6	7	8	9	10					
50,7 67,8 84,2 100,9	$   \begin{array}{c}     0 + 0 \\     1 + 1 \\     0 + 0 \\     6 + 2   \end{array} $	$ \begin{vmatrix} 7 \pm 2 \\ 10 \mp 2 \\ 9 \mp 2 \\ 11 \pm 2 \end{vmatrix} $	$24 \pm 3$ $28 \pm 2$ $29 \pm 1$ $27 \pm 2$	44 1	56 <del>+</del> 2 59 <del>+</del> 2	73 + 2 $74 + 2$	$85 \pm 3$ $87 \pm 2$ $89 \pm 1$ $84 \pm 3$	$(93 \pm 1)$ $(94 \pm 2)$ $(95 \pm 0)$ $(90 \pm 3)$	$(95 \pm 0)$ $(95 \pm 0)$ $(95 \pm 0)$ $(92 \pm 2)$					

Tabelle 37.

Gleicher Versuch wie Tabelle 36.

Zahl der getöteten Keimlinge in Prozenten der totalen Keimlingszahl.

Wasser- gehalt			<b>, , , , , , , , , , , , , , , , , , , </b>	Anzahl T	lage nach	Infizieru	ing		
9/6	2	8	4	5	6	7	8	9	, 10
50,7	0,0+0,0	0,9+0,2	5,0+0,7	11,7+1,2	20,7+1,7	29,1+2,5	39,0±2,8	50,7 <u>+</u> 8,9	62,4+3,8
67,8	0 8-1-0 8	14-08	6 2 +0 B	12.9 + 1.4	22.0 + 1.5	134.5 + 2.7	50.8 + 4.1	64.8 + 4.8	174.9 + 3.9
84,2	0,0±0,0	$1,2 \pm 0,3$	<b>6,6</b> <u>∓</u> 0,9	$14,9 \pm 1,4$	$27,2\pm1,6$	$41,0\pm 2,2$	$58,1 \pm 8,9$	$73,5\pm8,7$	80,8 = 2,9
100,9	0,6∓0,8	2,1∓0,5	7,0±0,9	$13,4\pm0,8$	23,0+1,1	$ 31,0\pm1,5 $	$42,4\pm 3,6$	54,8+4,5	62,0 +4,8

Tabelle 38.

Die Virulenz in ihrer Abhängigkeit vom Wassergehalt des Bodens.

Befall in Prozenten der totalen Keimlingszahl, bezogen auf gleichen Stand der Befallslinie.

187	Pythium de B	aryanum Nr. 5	Corti	icium vagum N	Vr. 32
Wassergehalt	*Abstand de	r Befallslinie vom	Infektionszer	trum in Milli	metern
<u> </u>	85	55	35	55	85
50,7 67,8 84,2 100,9	$6,2 \pm 2,0$ $5,6 \pm 1,1$ $6,7 \pm 1,2$	$15,2 \pm 4,1$ $12,7 \pm 2,0$ $14,4 \pm 2,5$ $10,5 \pm 2,3$	$10,1 \pm 1,1$ $9,7 \pm 1,0$ $9,9 \pm 1,1$ $11.0 \pm 0.8$	$20,1 \pm 1,7$ $21,1 \pm 1,5$ $23,9 \pm 1,5$ $22.5 \pm 1.1$	$   \begin{array}{r}     39,0 \pm 2,8 \\     47,9 \pm 3,9 \\     53,7 \pm 3,5 \\     44.3 \pm 3.7   \end{array} $

Tabelle 39.

### Einfluß des Wassergehaltes des Bodens auf den linearen Fortschritt des Befalles.

- 1. Zeitliches Auftreten des Befalles in 10, 60 und 85 mm Entfernung vom Infektionszentrum.
- 2. Mittlerer täglicher Fortschritt der Befallslinie.

gehalt	Auftrete	n des Befa	illes. Tage	nach Infi	zierung	Täglicher des Befalles	Fortschritt in Millimetern
Wassergehalt	Pyt. de Baryar	hium num Nr. 5	Con	rticium vag Nr. 32	nım	Pythium de Baryanum	Corticium vagum
<u>%</u>	Bei 10 mm	Bei 60 mm	Bei 10 mm	Bei 60 mm	Bei 85 mm	Nr. 5	Nr. 32
50,7 67,8 84,2 100,9	5,0 5,1 4,3 4,4	12,2 8,5 9,1 14,3	3,2 3,0 3,0 2,8	6,4 6,2 6,1 6,3	8,0 7,8 7,7 8,2	6,3 13,2 11,2 5,0	15,6 15,4 16,0 13,0

#### c) Schlußfolgerungen.

Aus den Befallsunterschieden, die durch unterschiedlichen Wassergehalt des Bodens in der Stärke des parasitären Keimverlustes hervorgerufen werden, lassen sich kaum allgemeingültige Gesetzmäßigkeiten herauslesen, da die Arten und Stämme stark verschiedenes Verhalten zeigen. In den meisten Fällen besteht auch keine Übereinstimmung in der Stärke der Befallstätigkeit unter und über Boden.

Aus den Wachstums-Infektionsversuchen mit Pythium de Baryanum Nr. 5 ergibt sich, daß für die Stärke des Wurzelbrandes an über Boden erschienenen Keimpflanzen hauptsächlich die veränderliche Wachstumsfähigkeit des Pilzes von Bedeutung ist und nicht die Virulenz. Wird die Infektion durch Corticium vagum Nr. 32 hervorgerufen, so besitzt im Gegensatz dazu die vom Wassergehalt des Bodens abhängige Virulenz ausschlaggebende Wichtigkeit und nicht die unterschiedliche vegetative Wachstumsfähigkeit des Parasiten. Sowohl auf Pythium de Baryanum als auch auf Corticium vagum wirken extrem trockener (50%) und extrem nasser (100%) Boden hemmend auf ihre pathogene Tätigkeit ein. Pythium

de Baryanum Nr. 5 entwickelt größte Wirksamkeit in Boden mit 67% Wassergehalt, Corticium vagum Nr. 32 bei 84%. Mit diesen Feststellungen in Einklang steht die von Hartley (1921) gemachte Beobachtung, daß der Wurzelbrand in Pflanzgärten nach Niederschlägen erst mit sinkendem Wassergehalt des Bodens an Heftigkeit zunimmt.

Es muß auffallen, daß Pythium de Baryanum, das sonst durch Veränderungen der Umweltsverhältnisse (Temperatur, Reaktion des Bodens) weniger leicht in seiner parasitischen Tätigkeit beeinflußt wird als Corticium vagum, sich im Myzelwachstum gegen verschiedenen Wassergehalt des Bodens als viel empfindlicher erweist (Tabelle 39). Im Zusammenhang mit dieser Feststellung muß auf grundsätzliche Unterschiede in der Ausbreitung der Myzelien der beiden Arten Pythium de Baryanum und Corticium vagum hingewiesen werden. Beobachtungen während der Versuche ergaben, daß das Myzel von Pythium de Baryanum sowohl auf der Bodenoberfläche, als auch im Boden bis in mehrere Millimeter Tiefe verbreitet ist. Dagegen scheint das Myzel von Corticium vagum vorwiegend nur die Bodenfläche zu überziehen. Durch besonders starke Luftmyzelbildung im feuchten Raum zeichnet sich Corticium vagum Nr. 20 aus. Auch nach dem Austritt der Keimpflanzen aus dem Boden erfolgt die Infizierung durch Puthium de Baryanum fast ausschließlich unter der Bodenoberfläche oder unmittelbar auf derselben. Corticium vagum verursacht meist Gewebezerstörung des ganzen unteren Steugelteils bis in mehrere Millimeter Höhe. während die Wurzeln meist noch gesund sind. Es ist naheliegend, in diesem unterschiedlichen Verhalten der beiden Arten die Ursache zu sehen, warum Pythium de Baryanum stärkere Abhängigkeit des vegetativen Wachstums vom Wassergehalt des Bodens zeigt als Corticium vagum und warum der durch Pythium de Baryanum (bei sonst gleicher Virulenz der Parasiten in bezug auf die Tätigkeit über Boden) verursachte Wurzelbrand unter Boden (Keimverlust) heftiger auftritt als der durch Corticium vagum hervorgerufene. Die Tatsache, daß Pythium de Baryanum in seinen Lebensvorgängen stark an Wasser gebunden ist, und die anderen Pythium-Arten ausgesprochene Wasserbewohner sind, würde erwarten lassen, daß Pythium de Baryanum ganz allgemein maximalen Wassergehalt bevorzugen würde. Es scheint deshalb, daß offenbar nicht der Wassergehalt als solcher, sondern andere, sekundär durch den Wassergehalt bedingte Verhältnisse (Gasgehalt des Bodens) ausschlaggebende Bedeutung besitzen.

# E. Der Einfluß des Entwicklungsgrades (Alter) des Wirtes auf den Befall.

Es liegt auf der Hand, daß die rasche Entwicklung, die die Wirtspflanze, im vorliegenden Fall der Fichtenkeimling, mit zunehmendem Alter durchmacht, eine Veränderung des Verhältnisses zum Parasiten bedingt.

Es ist eine von allen Beobachtern übereinstimmend festgelegte Tatsache, daß in vorliegender Arbeit untersuchte Form des Wurzelbrandes, also parasitärer Keimverlust und "Umfallkrankheit", nur an Saaten beobachtet wird und an Keimpflanzen, die wenige Wochen alt sind. Hansen, Kenety, Wiggin und Stakman (1923) wiesen an Hand von Freilandversuchen nach, daß Kulturen von verschiedenen Föhrenarten im Alter von drei Wochen, Saaten der Weißtanne dagegen im Alter von zwei Wochen am stärksten durch Wurzelbrand geschädigt werden. An älteren Keimpflanzen tritt der Wurzelbrand in anderer Form (Form 3 unserer Übersicht) auf. Dieser "späte Wurzelbrand" wird aber offenbar nicht durch dieselben Erreger hervorgerufen. Es gelang uns nie, aus solchen spät infizierten Keimpflanzen Pythium de Baryanum und Corticium vagum zu isolieren, obschon diese beiden Parasiten in denselben Pflanzgärten allgemein verbreitet waren.

Wenn vom Einfluß des Alters der Keimpflanzen auf den Befall gesprochen wird, so sind wir uns bewußt, daß natürlich nicht das Alter als solches, sondern der wirkliche Entwicklungsgrad der Keimlinge für das Verhältnis Wirt/Parasit, also für das Ausmaß des Befalles, maßgebend ist. Neben dem Faktor Zeit ist die Entwicklung der Keimpflanze an die Umweltsbedingungen (Temperatur, Wassergehalt, Bodeneigenschaften) gebunden. Der Begriff des Alters schlechthin stellt also kein eindeutiges Merkmal der Entwicklung dar. Da aber der Entwicklungsstand als solcher nicht ohne weiteres meßbar ist, so muß die Zeit doch als Maßstab der Entwicklung beibehalten werden. Dabei ist aber eine eindeutige Feststellung der Umweltsverhältnisse, die den Entwicklungsstand des Wirtes bestimmen, unerläßlich.

Unter konstanten Verhältnissen mit Kulturen steigenden Alters durchgeführte Versuche vermögen genauen Aufschluß über die Bedeutung der fortschreitenden Entwicklung der Keimpflanzen für den Verlauf des Infektionsvorganges zu geben. Für diese Untersuchung verwendeten wir als Parasiten die beiden stark virulenten Stämme Pythium de Baryanum Nr. 5 und Corticium vagum Nr. 32. In bestimmten zeitlichen Abständen (normalerweise eine Woche) wurden Fichtensaaten in kleinen Glasschalen (Größe 1) zur Keimung gebracht. Gemäß den früheren Angaben fanden die Versuche unter ständig gleichbleibenden Versuchsbedingungen (Bodeneigenschaften, Boden- und Luftfeuchtigkeit, Temperatur, Licht) statt. Jede Versuchsserie umfaßte acht Einzelkulturen. Nach Ablauf von neun bis zehn Wochen standen ebensoviele Versuchsserien mit stetig zunehmendem Alter und Entwicklungsstand zur Verfügung. Die Infizierung sämtlicher Kulturen eines Versuches erfolgte im selben Zeitpunkt, und zwar so, daß wie bei den früheren Virulenzversuchen eine Myzelsuspension in genau gleicher Menge auf die ganze Oberfläche der einzelnen Kulturen verteilt wurde.

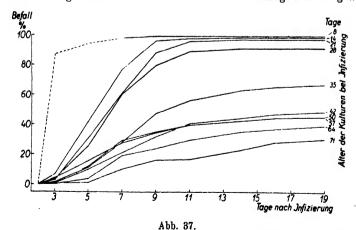
Die vorliegenden beiden Versuche sind untereinander nicht ohne weiteres vergleichbar, da ihre Durchführung sich zeitlich nicht deckte und ferner die Versuchstemperatur um rund 6°C verschieden war. Infolge der hohen Versuchstemperatur von 26.6 °C. die beim Stamm Corticium vagum Nr. 32 zur Anwendung gelangte, zeigte sich an den noch nicht infizierten Kulturen mit zunehmendem Alter steigender Abgang an Keimpflanzen infolge Fremdbefalles (Penicillium, Bakterien). Obschon der Befall in Prozenten der Anzahl Keimlinge ausgedrückt wird, die im Zeitpunkt der Infektion gesund waren, kann die Möglichkeit nicht von der Hand gewiesen werden, daß die Resultate der älteren Serien dadurch etwas beeinflußt worden sind. Dies wäre dann denkbar, wenn durch den Fremdbefall vorwiegend die Keimpflanzen mit allgemein geringerer Widerstandskraft getötet worden wären. Um diese Fehlerquelle zu vermeiden. wurde der Versuch mit Puthium de Baryanum Nr. 5 mit tieferer Temperatur (20,9°C) durchgeführt. Für die beiden jüngsten Versuchsserien (Nr. 1 und 2) ist eine Ermittlung der absoluten Keimzahlen ausgeschlossen, da die Infizierung in einem Zeitpunkt erfolgte, wo sich mindestens ein Teil der Keimpflanzen noch unter Boden befand. In den Tabellen sind deshalb die Mittelwerte der benachbarten Serien eingesetzt, soweit diese nicht durch Fremdbefall beeinflußt sind. Bei den für die Serien Nr. 1 und 2 für den Zeitpunkt 9, bzw. 10 Tage nach Infizierung berechneten Zahlen der lebenden Keimlinge ist zu berücksichtigen, daß möglicherweise nach diesem Zeitpunkt unter Boden noch Keimlinge getötet wurden, deren Anwesenheit nicht festgestellt werden konnte. Die betreffenden Zahlen sind deshalb vielleicht etwas zu klein, auf keinen Fall aber zu groß. Im Hinblick auf spätere Schlußfolgerungen ist diese Feststellung von Bedeutung. Aus den fortlaufenden Versuchszahlen der beiden Infektionsversuche wurden je zwei wichtige Zeitpunkte herausgegriffen und in den Tabellen 40 und 41 und Abb. 39 wiedergegeben. Der eine Beobachtungspunkt liegt in geringem zeitlichen Abstand vom Augenblick der Infizierung, so daß damit die Befallsverhältnisse unter Boden erfaßt werden. andere Beobachtungspunkt stimmt mit dem Versuchsabbruch überein, zeigt also, wie sich der Infektionsvorgang endgültig auf den Wirt auszuwirken vermag. Aus den Abb. 37 und 38 sind die ganzen Befallsvorgänge ersichtlich. Das vegetative Wachstum des Parasiten bis zum örtlichen Zusammentreffen mit dem Wirt erfolgte bei allen Serien in gleicher Weise. Unterschiede in der Befallsstärke sind deshalb nur möglich bei unterschiedlicher Virulenz des Pilzes gegenüber den Keimpflanzen verschiedenen Alters. Die Befallszahlen vermögen deshalb einen unmittelbaren Begriff über die Stärke der Virulenz zu geben.

Aus den Versuchsresultaten ist ersichtlich, daß mit zunehmendem Alter der Keimpflanzen die Virulenz von Pythium de Baryanum Nr. 5 abnimmt (Tabelle 40, Abb. 37 und 39). Am schwer-

Tabelle 40. **Einfluß des Alters der Keimpflanzen auf den Befall durch Pythium de Baryanum** Nr. 5. Abhängigkeit der Inkubationszeit vom Keimlingsalter. Konstante Temperatur 20,9 ° C.

===							
	en			Anzahl Keimlir	ige		
	r Keimpflanzen Infizierung	Im Zeitpunkt der Infizie- rung gesund	9 nach Infiz	Tage ierung gesund	19 nach Infiz	Tage ierung gesund	Mittlere Inkubationszeit
Serie	Alter der K S bei der In	Anzahl je Schale	Anzahl je Schale	In Prozenten der bei der Infizierung gesunden Keimlinge	Anzahl je Schale	In Prozenten der bei der Infizierung gesunden Keimlinge	Tage
							1
1	1	45,7±1,0		Nicht feststellbar		0,0 <u>+</u> 0,0	Nicht feststellbar
2	8	45,7±1,0	$0,4\pm0,2$	0,8±(0,4)	0,4±0,2	$0,9\pm(0,4)$	(4,6)
3	14	46,0 <u>+</u> 1,7	$1,9 \pm 0,6$	4,1 = 0,9	$0,6\pm 0,4$	1,3±1,0	6,5
4	21	46,6±0,7	5,5 <u>+</u> 1,0	$11,9\pm2,2$	$1,4\pm0,3$	3,0 <u>±</u> 0,6	7,3
5	28	46,6±1,1	$9,4 \pm 1,7$	20,4+3,8	4,0±0,8	$8,6\pm 1,9$	7,3
6	35	45,8±1,0	$24,3\pm2,4$	53,1+4,7	$15,2\pm2,3$	$33,2\pm4,7$	9,0
7	43	43,8±0,9	$29,8\pm1,9$	68,0±4,4	$22,2\pm3,0$	50,8 <del>±</del> 7.0	9,2
8	50	39,8 <u>+</u> 1,2	$26,2\pm2,5$	65,4±5,8	$22,2\pm 3,2$	55,7±7,5	7,8 8,2
9	57	44,6±1,1	$28,7\pm1,5$	64,6+2,7	24,2+1,3	<b>54,1</b> <u>∓</u> <b>3,</b> 3	8,2
10	64	42,2 + 1,8	$32,3\pm2,6$	76,4+4,7	$25,7\pm3,1$	60,9±5,8	9,8
11	71	41,6±1,3	$34,8\pm1,8$	83,8±3,0	28,8±2,2	69,2±4,7	11,2

wiegendsten wirkt sich die Infektion aus, wenn diese schon bei der Saat erfolgt; nur 1% der Keimlinge vermögen über Boden zu erscheinen. Unter den vorliegenden Außenverhältnissen (20,9% C) steigt der Befall an Saaten mit einem Alter von weniger als drei Wochen innerhalb elf Tagen auf über 95%. Eine wesentliche Herabsetzung des Befalles unter 50% kann erst bei Saaten mit einem Alter von über sechs Wochen festgestellt werden Selbst zehnwöchige Saaten erweisen sich noch keineswegs als völlig wider-

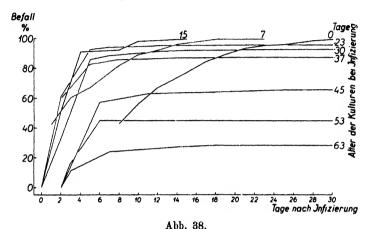


Einfluß des Alters der Keimpflanzen auf den Befall durch Pythium de Baryanum Nr. 5. Konstante Temperatur 20,9° C.

Befall in Prozenten der Zahl der bei der Infektion vorhandenen Keimlinge.

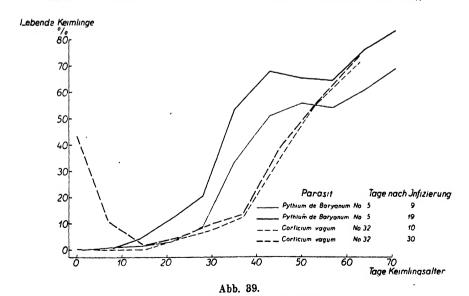
standsfähig gegen den Angriff dieses stark virulenten Stammes. Nicht abgeklärt ist die Ursache der Erscheinung, daß die Widerstandsfähigkeit von Keimpflanzen in einem Alter von 43 bis 57 Tagen annähernd gleich bleibt (Abb. 39).

Corticium vagum Nr. 32 (Tabelle 41, Abb. 38 und 39) zeigt in bezug auf den Enderfolg des Infektionsvorganges im allgemeinen Übereinstimmung mit den für Pythium de Baryanum gemachten Feststellungen.



Einfluß des Alters der Keimpflanzen auf den Befall durch Corticium vagum Nr. 32. Konstante Temperatur 26.6 ° C.

Befall in Prozenten der Zahl der bei der Infektion vorhandenen Keimlinge.



Einfluß des Alters der Keimpflanzen

auf den Befall durch Pythium de Baryanum Nr. 5 und Corticium vagum Nr. 32. Anzahl lebende Keimlinge in Prozenten der bei der Infektion vorhandenen Keimlinge.

Tabelle 41.

Einfluß des Alters der Keimpflanzen auf den Befall durch Corticium vagum Nr. 82.

Abhängigkeit der Inkubationszeit vom Keimlingsalter. Konstante Temperatur 26,6° C.

	E	1		Anzahl Keim	linge		
	r Keimpflanzen Infizierung	Im Zeitpunkt der Infizie- rung gesund	10	Tage ierung gesund	30 nach Infiz	Tage zierung gesund	Mittlere
Serie	g Alter der Ko g bei der Inf	Anzahl je Schale	Anzahl je Schale	In Prozenten der bei der Infizierung gesunden Keimlinge	Anzahl je Schale	In Prozenten der bei der Infizierung gesunden Keimlinge	Inkubationszeit Tage
1 2 8 4 5 6 7 8 9	0 7 15 23 80 87 45 58 68	84,4±1,7 84,4±1,7 84,4±1,7 83,8±1,4 27,5±1,7 19,5±1,0 17,6±1,4 17,0±2,0 12,6±1,7	14,9±1,8 3,7±0,8 0,6±0,1 1,6±1,1 2,7±1,1 2,6±1,2 6,7±1,7 9,4±1,6 9,3±0,9	$\begin{array}{c} 48.3 \pm (5.5) \\ 10.8 \pm (8.0) \\ 1.7 \pm 1.0 \\ 4.8 \pm 3.8 \\ 9.8 \pm 4.5 \\ 13.4 \pm 7.4 \\ 38.1 \pm 9.5 \\ 55.2 \pm 14.5 \\ 78.9 \pm 7.0 \end{array}$	0,1±0,1 0,0±0,0 0,0±0,0 1,4±1,0 2,0±1,0 2,4±1,2 6,0±1,7 9,4±1,6 9,0±0,9	$\begin{array}{c} 0.3 \pm 0.4 \\ 0.0 \pm 0.0 \\ 0.0 \pm 0.0 \\ 0.0 \pm 3.0 \\ 4.2 \pm 3.0 \\ 7.3 \pm 2.8 \\ 12.3 \pm 7.2 \\ 34.1 \pm 8.7 \\ 55.2 \pm 14.5 \\ 71.5 \pm 6.3 \end{array}$	Nicht feststellbar Nicht feststellbar 8,4 3,4 4,5 3,4 7,0 5,0 6,7

Bei einer Versuchstemperatur von 26,6° C bedingt ein Keimlingsalter von weniger als 37 Tagen über 85°/<sub>o</sub> Befall. Erst sieben Wochen alte Kulturen weisen eine Widerstandsfähigkeit von rund 50°/<sub>o</sub> auf. Im allgemeinen ist der Infektionsvorgang an über zwei Wochen alten Keimlingen nach Ablauf von acht Tagen (nach Infizierung) fast vollständig abgeschlossen. Grundsätzlich verschiedenes Verhalten im Vergleich zu Pythium de Baryanum Nr. 5 äußert Corticium vagum Nr. 32, wenn die Infektion vor Austritt der Saaten aus dem Boden ausgeführt wird. Während nämlich die Vernichtung von fünfzehn Tage alten Kulturen äußerst rasch erfolgt und schon nach vier Tagen 90°/<sub>o</sub> der ursprünglichen Keimlingszahl übersteigt, vermag der Parasit 0 bis 7 Tage alte Keimpflanzen erst nach bedeutend längeren Zeiträumen vollständig zu vernichten.

Aus diesen Feststellungen läßt sich erkennen, daß Corticium vagum an Keimpflanzen unter der Bodenoberfläche nur in sehr geringem Maße Befall verursachen kann. Auf diese auffallende Erscheinung wurde bei früheren Versuchen schon mehrmals hingewiesen, ohne daß ein zahlenmäßiger Nachweis dieser Erscheinung gegeben werden konnte. Die Ursache des stark verzögerten Infektionsvorganges nach Austritt dieser früh infizierten Kulturen aus dem Boden ist nicht ohne weiteres feststellbar. Möglicherweise besitzt der Parasit auf demselben Boden nach Ablauf einer gewissen Zeit nicht mehr dieselben Lebens- und Infektionsmöglichkeiten wie im Zeitpunkt des erstmaligen Überwachsens des Bodens.

Am Schluß der Tabellen 40 und 41 sind die mittleren Inkubationszeiten für die einzelnen Serien mit verschiedenem Entwicklungsstand der Keimpflanzen zusammengestellt. Die Unregelmäßigkeiten im Verlauf der Zahlenreihen sind teilweise vermutlich auf den Umstand zurückzuführen, daß die Auszählung der erkrankten Keimpflanzen nur alle zwei Tage erfolgte. Mit zunehmendem Entwicklungsgrad der Keimlinge steigt die Inkubationszeit in ähnlicher Weise an wie die Zahl der endgültig überlebenden Keimpflanzen. Die minimale Inkubationszeit von der Boden-Infizierung bis zum Umfallen der Keimlinge beträgt zwei Tage.

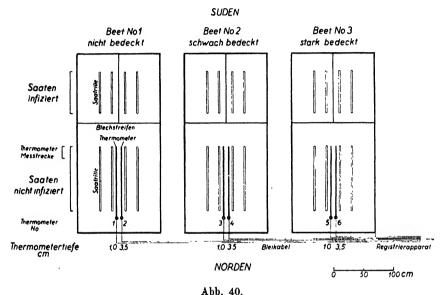
Zusammenfassend ist zu sagen, daß Pythium de Baryanum Nr. 5 und Corticium vagum Nr. 32 in ihrer endgültigen Auswirkung auf den Infektionsvorgang ähnliche Abhängigkeit vom Entwicklungsstand (Alter) der Wirtspflanzen zeigen. Fortschreitender Entwicklungsgrad des Wirtes setzt die Virulenzstärke und den Befall in stetig zunehmendem Maße herab und erhöht die Inkubationszeit.

# 3. Kapitel. Die Freilandversuche.

Die Durchführung von planmäßig angelegten Versuchen im Freiland lag nicht im engeren Aufgabenbereich der vorliegenden Arbeit. Da jedoch die Möglichkeit bestand, mit einer für unsere Zwecke besonders geeigneten Apparatur Bodentemperaturmessungen durchzuführen, wurde im Jahre 1932 mit einer einfachen Versuchsanordnung der Einfluß der Temperatur auf das Auftreten des Wurzelbrandes im Freiland nachgeprüft. Eine Stetigkeit der Versuchsverhältnisse, wie diese bei Laboratoriumsversuchen eingehalten werden kann, ist in Freilandversuchen nur in bezug auf die chemischen und physikalischen Bodeneigenschaften einigermaßen möglich. Alle anderen Umweltsfaktoren sind veränderlich. Als Versuchsort konnte eine geeignete Bodenfläche im Pflanzgarten Adlisberg der schweizerischen Zentralanstalt für das forstliche Versuchswesen (680 Meter über dem Meere) benutzt werden. Für die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung des Versuches sei auch an dieser Stelle allen beteiligten Organen der schweizerischen Zentralanstalt, sowie Herrn L. Zobrist, Fachlehrer in Naturwissenschaften, der beste Dank ausgesprochen.

Der Versuch fand in drei genau gleich beschaffenen, unmittelbar benachbarten Saatbeeten von 1,4×3,0 m Größe statt, die schwache Nordexposition (3°/o) besaßen. Die Längsachse der Beete lag in Nord-Süd-Richtung. Durch Einschlagen von 13 cm breiten Bändern aus galvanisiertem Eisenblech erfuhren die Beete eine Trennung in eine nördliche und eine südliche Hälfte; die südliche Hälfte wurde nochmals in der Längsrichtung unterteilt (Abb. 40). Die Blechstreifen versenkten wir derart in den Boden, daß sie nur 1 bis 2 cm über die Bodenoberfläche hervorragten, im Boden selbst dagegen eine etwa 10 cm hohe Scheidewand bildeten. In der Mitte der nördlichen Beethälften wurden in einem Abstand von 8 cm in der Längsrichtung der Beete je zwei Widerstandsthermometer

eingesetzt. Das eine Thermometer registrierte die Bodentemperatur in 1,0 cm Tiefe, das andere in 3,5 cm Tiefe unter der Bodenoberfläche. Die Temperaturmessung erfolgte auf eine Strecke von 20 cm Länge horizontal unter der Oberfläche durch Bestimmung des von der Temperaturhöhe abhängigen Ohm'schen Widerstandes einer in einer flachen Kupferhülse (2 mm dick, 1 cm breit) eingeschlossenen Platinspirale. Die Temperaturregistrierung vollzog sich bei jedem einzelnen Thermometer in zeitlichen Abständen von etwa 20 Minuten selbsttätig auf einem Papierstreifen der



Temperaturmessungen in Saatbeeten des Pflanzgartens Adlisberg. Versuchsanordnung.

rund 15 m entfernten Registrierapparatur, die mit den Thermometern durch Bleikabelleitungen verbunden war. Technische Einzelheiten der Meßmethode sind von Gäumann in Gäumann, Roth und Anliker (1934, Seite 106 bis 108) ausführlich beschrieben worden. Da die Temperaturbestimmung sich bei dieser Versuchsanordnung über einen bedeutenden Meßraum erstreckt, und die Meßorgane ständig in gleichbleibender Tiefe unter der Bodenoberfläche liegen, so sind infolgedessen Fehler, wie sie durch zufällige örtliche Temperaturunterschiede verursacht werden, oder Strahlungsfehler, wie sie bei Quecksilberthermometern vorkommen, ausgeschlossen. Vor und nach dem Versuch wurden Thermometer und Registrierapparatur mit Normalwiderstand und Meßbrücke auf ihre Genauigkeit geprüft und geeicht. Die Nachkontrollierung der Thermometertiefe erfolgte alle 8 bis 14 Tage mittels eines dünnen Sondierstabes.

Der Boden der Saatbeete ist ein toniger Lehm, hervorgegangen aus der oberen Süßwassermolasse des Untergrundes. Er besitzt einen mitt-

leren Säuregrad von pH 7,25. Die chemische Analyse, die in dankenswerter Weise von der Eidgenössischen landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Oerlikon-Zürich durchgeführt wurde, zeigt, daß der Boden sehr ähnliche Eigenschaften besitzt wie der in den Laboratoriumsversuchen verwendete normale Versuchsboden. Der Gehalt an Magnesia und Kieselsäure des Bodens vom Adlisberg ist etwas größer, die Azidität etwas geringer. Die genauen Angaben sind aus Tabelle 42 ersichtlich.

Tabelle 42. Chemische Analyse des Bodens vom Adlisberg.

Verbindung	 Gewichtsprozente, auf wasserfreie Substanz berechnet
Stickstoff	0,17
Phosphorsäure	0,05
Kali	0,10
Kalk	0,51
Magnesia	0,81
Eisen und Tonerde	6,98
Kieselsäure	0.18

In allen drei Saatbeeten wurde am 27. April 1932 Fichtensamen in je vier in der Längsrichtung verlaufende Rillen gesät. Zur Verwendung gelangte der auch für die Laboratoriumsversuche benutzte Fichtensamen, der aus dem Staatswald Hard bei Eiken (Aargau) stammte. Die Saatdichte der Rillen entsprach der unter normalen Verhältnissen in forstlichen Pflanzgärten verwendeten. Die Beete wurden mit Saatgittern bedeckt, bestehend aus einem 13 cm hohen, etwas außerhalb der Beetflächen stehenden Holzrahmen, der eine Bespannung mit Drahtgitter von zirka 2 cm Maschenweite aufwies. Beet 2 erhielt auf dem Saatgitter eine lockere Überdeckung mit einer einfachen Astschicht von Weißtanne. Beet 3 wurde etwa doppelt so stark bedeckt wie Beet 2. Nach Austritt der Saaten aus dem Boden wurde das Saatgitter von Beet 1 dauernd entfernt. Beet 1 gibt somit die Verhältnisse auf der kahlen Fläche wieder, Beet 3 stellt extreme Schattenverhältnisse unter dichtem Saatgitter dar, und Beet 2 steht zwischen den beiden Extremen.

Die vorliegende Versuchsanordnung sollte ausschließlich dazu dienen, festzustellen, welche Bodentemperaturen unter den vorliegenden Verhältnissen in der obersten Bodenschicht (Keimschicht) der Saatbeete vorkommen, und bei welcher Bodentemperatur Wurzelbrand auftreten kann. In eine ausführliche Behandlung der aus den Bodentemperatur-Messungen sich ergebenden allgemeinen mikroklimatischen Feststellungen kann im folgenden nicht eingetreten werden. Es wird lediglich die kurze Zeitspanne von Ende April bis Mitte Juni herausgegriffen, die für das Auftreten des Wurzelbrandes im Freien von unmittelbarem Interesse ist.

Die täglichen Temperaturminima und -maxima vermögen ein klares Bild zu geben, innerhalb welcher extremen Grenzwerte sich die Temperaturkurven bewegen. Eine genaue Berechnung der Tagesmitteltemperaturen wäre möglich durch Zerlegung der Temperaturkurve in Teilstrecken, Bestimmung der zugehörigen Mitteltemperaturen und Bildung der arithmetischen Mittel derselben. Da die Tagestemperaturkurven in der Regel annähernd symmetrischen Verlauf zeigen, genügt für unsere Zwecke eine Berechnung der Tagesmitteltemperaturen aus den Minima und Maxima der Temperaturkurven. Um eine klare Übersicht über die Zusammenhänge zu erhalten, werden die sich folgenden Tage mit annähernd gleicher Witterung in Perioden zusammengefaßt, indem aus den täglichen Einzelwerten die arithmetischen Mittel berechnet werden. Die Temperaturkurven gestatten ferner die Ermittlung der täglichen Zeiträume, während deren die Temperatur sich innerhalb oder außerhalb der kritischen Spanne von 15 bis 30°C bewegt. Wie die Laboratoriumsversuche ergeben haben, ist der durch Pythium de Baryanum und Corticium vagum verursachte Wurzelbrand in seinem Auftreten im allgemeinen an diese äußeren Temperaturgrenzen gebunden. Aus der tabellarischen Zusammenstellung kann auch ohne weiteres entnommen werden, welche Zeitraume den Fusarien fur ihre stärkste parasitäre Tätigkeit zur Verfügung stehen (Tabelle 43).

Die Temperaturunterschiede zwischen der Meßtiefe 1,0 und 3,5 cm unter Bodenoberfläche erwiesen sich als gering. Als größte Differenz wurden für die Schönwetterperiode vom 11. bis 17. Juni 1932 im unbedeckten Beet bei Maximaltemperatur nach Mittag 1,5 °C ermittelt. Bei bedecktem Himmel sinkt der Unterschied für die Periode vom 2. bis 12. Mai 1932 im selben Beet auf 0,2 °C. Die Temperaturdifferenzen sind in den bedeckten Saatbeeten und während der ubrigen Tageszeiten mit weniger intensiven Strahlungsverhaltnissen naturgemäß kleiner als die genannten. Da die geringen Unterschiede verschiedener Tiefenzonen der Keimschicht im vorliegenden Fall praktisch keine bedeutende Rolle spielen, sind in der Tabelle 43 nur die Messungen der Thermometer mit 1,0 cm Tiefe angeführt.

Vom 28. April 1932, dem Zeitpunkt der Saat an, wechselten kurze Perioden klaren Wetters mit längeren Perioden kalten Wetters regelmäßig ab. Erst vom 17. Juni an erschienen die Kulturen allmählich über Boden, in den bedeckten Beeten natürlich langsamer als im nicht bedeckten. Am 26. Mai wurden die Rillen der sudlichen Beethälften bei regnerischer Witterung mit Myzelaufschwemmungen von Reiskulturen von Pythium de Baryanum Nr. 5, Fusarum bulbigenum v. blastwola Nr. 72 und Corticium vagum Nr. 32 infiziert. Nach wechselndem, vorwiegend kühlem Wetter stellte sich vom 11. Juni an eine mehrtägige Periode klaren warmen Wetters ohne Niederschläge ein. Sämtliche Saaten waren am 10. Juni noch vollständig gesund. Das erste Auftreten des Wurzelbrandes erfolgte

Tomporatur der Kelmschicht, 1 cm unter der Bodenoberfläche, in den Versuchssaatbeeten des Pflanzgartens Adlisberg. Minima. Maxima und Mittel. im Mittel der Perioden abnlicher Witterung. Temperatur-Stunden und Pag im Mittel der Perioden Tabelle 43.

minims, max	minims, maxims and micel, in milled her relived andicher villerang.	POTTO	9	Inche		To To		The last	900	) In la	ren p	remperature of pro 13g im mittel der Perioden.	g 111	JIII I	Sel de	H L	LIOUGE	d	
			Mit	teltem	perat	Mitteltemperaturen der Perioden °C	ler P	eriod	en			Ter	Temperatu Mittel der	turst r Pe	Temperaturstunden pro Tag, dittel der Perioden; Stunden	n pro	Tag,	5	
Periode	Witterung	un I	Beet 1 unbedeckt	kt	Sc. B	Beet 2 schwach bedeckt		De s De	Beet 3 stark bedeckt		and	Beet 1 unbedeckt		A S S	Beet 2 schwach bedeckt		m * &	Beet 8 stark bedeckt	
Latur	bemerk ingen	8miniM	amixaM	lettiM	sminiM —	smixsM 	Mittel	smintM —	smixsM	Mittel	Unter 15° C	15—80° ('	300 C	12°C	D 08-81	Neber 30° C	Unter 15° C	72-80°C	Ueber 80° C.
1932 28. April	tage.	1	1	1	1		1				-								
29. April bis 1. Mai 2. bis 12. Mai	Hell, warm Bedeckt, Regen, kalt	0,00	29,5 16,6	19,7	8 rg ,	19,01	14,0	10,6	17,9 1	8.7		3,9	0,0	17,0 23,8	0,0	0,0	16,0 24,0	0,0	<del>5</del> ,5
13. bis 21. Mai 17. Mai	. H	6,11	6.4 10	0,57	0,1	0,1	5 5 1	8,1	22,6	7	6,8		5,5		6, 1	1,6	11,6	18,4	0,1
22, bis 26. Mai	Vorwiegend bedeckt, Regen, kuhl	9,8	6'02	15,3	6,6	16,4 13,1	13,1	11,0 15,0		13,0	16.2	7,8	0,0	19,5	4,5	0,0	21,4	2,6	0,0
20. Mai	der Rillen		1	1	1	-	1		1	1		•	1		1		1	1	1
27. bis 28. Mai 29. bis 30. Mai	Teilweise bedeckt, kuhl Bedeckt, Regen, kalt	4,8 8.8	28,5 16,5	17,9 12,7	8,4	21,6' 14,7 $12,4   10,4$	14,7 10,4	9,4	17,1	13,3	12,5 15,0	9,0	0,0	15,5 20,0	8,5 4,0	0,0	19,0 24,0	5 0,0	0 0 0
31. Mai dis 6. Juni	Wechseing bewolkt, ziemlich	9,9	9,9 29,0 19.5	19,5	9,6	9,6  23,5  16,6	6,6	11,0	18,1 14,6 10,8	4,6	_8,0 	12,0	1,2	14,4	9,6	0,0	16,8	4	0.0
5. bis 10. Juni	Wechselnd bewolkt mit Meder- schlägen, kühler. (Meßlucke)	1	1	1	- 1	<u> </u>	1	 I	- <u>-</u>	1	_ ·	<u>.</u> 	1	1	1	1	1	1	. 1
11. bis 17. Juni	Schön, sehr warm, zeitweise	14.1	37.3	25.7	13.4	32.6 23.0 13.5	3.0		22.4 17.9	7.9	- 8	14.7	6		14.8	4.6	2	7.0	9
13. bis 17 Juni	Starker Befall der infizierten			-	-	-					<u>.</u>		2	<u>.</u>	-	ì	5	2	ş.
	Nr. 32 Defined and might	1	ı	١	i	1	1	1	1	1	1	<u>.</u> 1	1	1	1	Ī	1	1	}
						-													
	Beet 1	Ī	1	1	ı	l	Ī	-	-	<u> </u>	-	ì	1	_ 	<u> </u>	1	1	1	į

am 13. Juni, namentlich stark bei der mit Corticium vagum infizierten Saatrille im nicht- und schwachbedeckten Beet. Befall an nicht infizierten Saaten zeigte sich nur in schwachem Ausmaß im unbedeckten Saatbeet an einer Rille. Am 17. Juni waren die mit Corticium vagum infizierten Saatrillen sämtlicher Beete vollständig vernichtet. Bedeutende Schädigungen (25%) Befall) wies ferner die erwähnte nicht infizierte Rille des unbedeckten Beetes auf. Die übrigen Saaten blieben dauernd gesund. Keimlingszerstörung durch Trpuliden-Larven machte sich im stark bedeckten Beet vom 17. Juni an bemerkbar.

Festgehalten werden muß, daß sich während der ersten Schönwetterperiode vom 13. bis 21. Mai trotz beträchtlich hoher Bodentemperaturen (23.0 °C im unbedeckten Beet; 17,2 Stunden pro Tag mit über 15 °C) an den noch unter Boden liegenden Saaten kein Befall bemerkbar machte. Auch die relativ warme Zeit vom 31. Mai bis 4. Juni vermochte trotz unmittelbarer starker Infizierung der Kulturen bei einer mittleren Temperatur von 19.5 °C und unter zwölfstündigem täglichen Einfluß der Temperaturspanne 15 bis 30 ° C keinen Wurzelbrand zu bewirken. Erst Bodenmitteltemperaturen von über 23°C und mindestens 14-stündige tägliche Einwirkung von 15 bis 30°C (19 Stunden über 15°C) waren imstande. starken Befall an einem Teil der infizierten Kulturen hervorzubringen. Diese Tatsachen scheinen nicht ohne weiteres in Übereinstimmung mit den Erfahrungen zu stehen, die unter konstanten Temperaturverhältnissen in den Laboratoriumsversuchen gemacht wurden. Es darf dabei allerdings nicht außer Acht gelassen werden, daß der Freilandversuch nicht nur durch die Temperaturverhältnisse beeinflußt wird, sondern auch durch andere Umweltsfaktoren, namentlich den Wassergehalt von Boden und Luft. Dazu kommt die bis heute nicht abgeklärte Einwirkung des ständigen Temperaturwechsels auf die Ausbreitung des Parasiten und den Infektionsvorgang.

Im Frühjahr 1931, also ein Jahr vor Durchführung dieses Versuches, war im Pflanzgarten Adlisberg an allen meist gerade aus dem Boden hervortretenden Nadelholzsaaten der Wurzelbrand von verheerender Wirkung gewesen. Damit stellt sich die Frage, ob die klimatischen Verhältnisse der beiden Jahre 1931 und 1932 wesentliche Unterschiede aufwiesen, die die abweichende Tätigkeit der Wurzelbrandparasiten erklären könnten. In der Mitte des Pflanzgartens Adlisberg, rund 50 m vom Versuchsort entfernt, befindet sich eine ständige forstlich-meteorologische Station. Die Aufnahmen derselben wurden uns von der schweizerischen Zentralanstalt für das forstliche Versuchswesen in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt. In Tabelle 44 sind die hier besonders interessierenden meteorologischen Angaben der Station Adlisberg für die kritischen Zeiträume vom 22. Mai bis 17. Juni der beiden Jahre 1931 und 1932 zusammengestellt. Die Lufttemperaturen wurden in einer offenen meteorologischen Schutzhütte, am Schatten, 1,70 m über Boden abgelesen. Um eine alleinige Berück-

sichtigung der Lufttemperaturen der Tageshälfte zu vermeiden, errechneten wir aus den täglichen Minimal- und Maximaltemperaturen die arithmetischen Mittelwerte. Die Bodentemperaturen wurden mit einem Quecksilberthermometer in 5 cm Tiefe am Schatten unter der erwähnten Schutzhütte gemessen. Da eine Feststellung der Extremtemperaturen nicht erfolgte, können nur die arithmetischen Mittel aus den drei täglichen Ablesungen um 7, 13 ½ und 18 Uhr angegeben werden. Im folgenden sind die wichtigsten Unterschiede, die in den meteorologischen Verhältnissen der beiden Jahre bestehen, in knapper Form zusammengefaßt.

Die Gegenüberstellung der Lufttemperaturen der beiden Jahre ergibt, daß das Monatsmittel des Mai 1932 um 3,2°C, des Juni 1932 um 3,0°C hinter den entsprechenden Temperaturwerten von 1931 zurücksteht. Das Jahr 1931 zeichnet sich durch längere Warmwetterperioden vom 11. bis 16. April, 23. bis 30. Mai, 3. bis 5. Juni und 7. bis 17. Juni aus. Im

Tabelle 44.

Registrierungen der forstlich-meteorologischen Station Adlisberg der schweizerischen Zentralanstalt für das forstliche Versuchswesen.

Luft- und Bodentemperaturen,

Niederschlag und Sonnenscheindauer vom 22. Mai bis 17. Juni 1931 und 1932.

1932 193 11,0 11, 12,1 12,		1931	1932	1981	1982
		1			1902
9,9 14, 12,0 14, 9,9 16, 11,2 17, 11,9 17, 7,5 16, 10,6 16, 11,8 14,	9   12,1 0   11,2 8   10,9 5   10,6 3   10,1 12   10,5 9,4 5   9,6	9,0 	3,4 8,0 8,1 1,1 1,4 6,1 9,1 17,4 7,2 1,8	8,65 10,80 9,10 11,85 11,25 10,50 7,25 10,15 7,85	0,05 6,10 1,15 5,15 0,80 9,25 2,95 
18,4 13, 16,2 12, 15,0 12, 15,8 13, 14,4 15, 10,9 15, 7,8 14, 9,9 14, 11,0 14, 15,1 15,1 18,0 16, 18,6 18,1 17,5 18,1	1 11,5 2 12,0 3 12,5 3 18,6 1 18,8 5 12,7 6 10,8 10,5 9 11,2 9 12,9 0 13,9 0 14,9 7 14,4 8 14,7	8,4 10,6 ————————————————————————————————————	2,1 	3,60 4,75 12,25 12,30 12,15 2,05 6,10 6,55 	1,10 9,85 4,00 7,15 4,85 4,40 0,25 4,95 6,85 12,15 11,90 10,90 8,20 12,20 3,95
	18,0   16, 18,6   18, 17,5   18, 17,4   18, 16,5   18, 12,2   17,	18,0	18,0	18,0     16,9     12,9     —     —       18,6     18,0     18,9     6,1     —       17,5     18,0     14,9     —     —       17,4     18,7     14.4     2,6     —       16,5     18,8     14,7     —     1,2       12,2     17,1     14,5     —     —	18,0     16,9     12,9     —     —     11,90       18,6     18,0     13,9     6,1     —     3,75       17,5     18,0     14,9     —     —     10,10       17,4     18,7     14.4     2,6     —     11,75       16,5     18,8     14,7     —     1,2     9,25

Phytopath. Z. Bd 8 Heft 1

Gegensatz dazu besitzt das Jahr 1931 keine langen Schönwetterperioden; es folgen vielmehr in kurzen Abständen immer wieder Unterbrüche durch kühles Wetter. Die mehrtägige Warmwetterperiode vom 10. bis 15. Juni 1932, die bei den mit Corticium vagum Nr. 32 infizierten Saaten Wurzelbrand zu bewirken vermochte, steht um 4,0°C gegenüber der Periode vom 10. bis 17. Juni 1931, während der damals die große Wurzelbrandepidemie herrschte, zurück.

Ein Vergleich der Bodentemperaturen zeigt, daß das Jahr 1931 schon vom 26. bis 30. Mai am Schatten Temperaturen vom 16,5 bis 17,3° C aufweist, daß nach einer vorübergehenden Senkung die Temperatur vom 5. Juni an wieder rund 15° C beträgt und schließlich vom 10. Juni an rasch bis auf 18,7° C steigt. Im Jahre 1932 vermag auch die Schönwetterperiode vom 10. bis 15. Juni die Bodentemperatur am Schatten nicht auf 15° C zu heben. Die mittleren Bodentemperaturen der Warmwetterperioden vom 7. bis 14. Juni 1931 und 11. bis 15. Juni 1932, die in den beiden Jahren das Auftreten des Wurzelbrandes offenbar am stärksten begünstigten, sind nur um 2,1° C verschieden. In den Saatbeeten waren aber die wirklichen Temperaturunterschiede der beiden Jahre sicher größer, als die am Schatten (der meteorologischen Station) gemessenen Temperaturen erkennen lassen.

Eine Gegenüberstellung der Boden-Mitteltemperaturen der meteorologischen Station mit den durch die Messungen in den Saatbeeten bestimmten Mitteltemperaturen des Jahres 1932 mag einen Anhaltspunkt zur Ermittlung der im Jahre 1931 in den Saatbeeten tatsächlich vorgekommenen Bodentemperaturen zur Zeit der großen Wurzelbrandepidemie geben (Tabelle 45). Auf Grund der von der meteorologischen Station ermittelten Unterschiede in der Bodentemperatur der betrachteten wärmsten Perioden der beiden Jahre und unter Heranziehung der 1932 in den Saat-

Tabelle 45.
Gegenüberstellung der Bodentemperaturmessungen
der forstlich-meteorologischen Station Adlisberg und der in den Versuchssaatbeeten
vorgenommenen Temperaturmessungen.

,	Mitteltemper	aturen in o('
Meßstelle	Warme Periode vom 11.—15. Juni 1932.	Kalte Periode vom 27.—30. Mai 1932.
Forstlich-meteorologische Station Adlisberg. (5 cm Tiefe, am Schatten, 3 Ablesungen am Tag) Versuchssaatbeete. (1 cm Tiefe, Mittel aus	14,2	9,9
Maximal- und Minimaltemperaturen) Beet Nr. 3, stark bedeckt Beet Nr. 2, schwach bedeckt Beet Nr. 1, unbedeckt	17,9 28,0 25,7	12,1 12,0 15,8

beeten beobachteten Temperaturen kommt man für die Wurzelbrandperiode von 1931 (7. bis 14. Juni) auf eine Bodentemperatur von mindestens 25,1° C (23,0+2,1) im schwach bedeckten Saatbeet. Wenn auch als sicher angenommen werden kann, daß der Unterschied in der Bodentemperatur der Saatbeete in der kritischen Periode der beiden Jahre sicher größer ist als 2,1°C, so kann doch aus der unterschiedlichen Temperaturhöhe allein nicht das unterschiedliche Verhalten der beiden Jahre erklärt werden. Allerdings steigt 1932 die mittlere Bodentemperatur der bedeckten Beete nie über 19.0° C, sondern liegt in der Regel unter 15° C. Das unbedeckte Saatbeet besitzt wohl Perioden-Mitteltemperaturen von über 15°C (bis 25.7° C); die ständigen Kälteeinbrüche mit Bodentemperaturen unter 15° C verunmöglichen indessen langandauernde Einwirkung höherer Temperaturen. Unzweifelhaft kommt der Dauer der Warmwetterperioden und ihrer Aufeinanderfolge ausschlaggebende Bedeutung zu. So ist die Wurzelbrandepidemie im Juni 1931 unzweifelhaft unter dem Einfluß von zwei längeren Perioden mit hoher Bodentemperatur (25. bis 31. Mai und 15. bis 17. Juni) entstanden, die nur durch einen Zeitraum von vier Tagen mit niedriger Temperatur getrennt waren.

Außer den Temperaturunterschieden zeigten die Perioden, die das Auftreten des Wurzelbrandes in den beiden Jahren 1931/32 am meisten begünstigten, bedeutende Unterschiede im Vorkommen von Niederschlägen. Die eigentliche Wurzelbrandperiode des Jahres 1931 war anfänglich von täglichen Niederschlägen begleitet; vom 10. Juni an folgten jeden zweiten Tag Gewitterregen, so daß der Boden auch in unbedeckten Saatbeeten bei hoher Temperatur in ständig feuchtem Zustand gehalten wurde. In der kritischen Periode des Jahres 1932 fehlten dagegen Niederschläge fast vollständig; die letzten Regenfälle gingen um mehrere Tage voraus.

Die oben festgehaltenen Unterschiede in den meteorologischen Verhältnissen der beiden Jahre lassen erkennen, daß zur Entstehung einer ausgesprochenen allgemeinen Wurzelbrandepidemie offenbar langandauernde Warmwetterperioden mit geeigneten Feuchtigkeitsverhältnissen von Boden und Luft notwendig sind. Auf alle Fälle genügt das Vorkommen einer einzigen kurzen Warmwetterperiode nicht, um schwere Wurzelbrandschäden hervorzurufen. Es scheint, daß die einer Epidemie vorangehenden Perioden warmen Wetters, die von der eigentlichen Befallszeit durch kältere Perioden getrennt sein können, den Wurzelbrandparasiten zur vegetativen Ausbreitung und Vorbereitung zum Angriff auf den Wirt dienen. Es genügen dann relativ niedrige Temperaturen (unter 20°C), um eine Epidemie einzuleiten (7. Juni 1931).

#### 4. Kapitel.

# Schlußfolgerungen. Abwehrmaßnahmen.

Grundbedingung für das Zustandekommen der Infektion ist die Anwesenheit des Parasiten in dem eng begrenzten Entwicklungszustand des Wirtes, der dem Parasiten den erfolgreichen Angriff auf die Keimpflanze unter bestimmten Umweltsverhältnissen gestattet. Die im 1. Kapitel enthaltenen Beobachtungen liefern den Nachweis, daß die Wurzelbranderreger weite örtliche Verbreitung in Pflanzgärten und in Waldböden besitzen.

Die Laboratoriumsversuche haben als einen der wichtigsten, für die Ausbreitung und das Auftreten des Wurzelbrandes maßgebenden Umweltsfaktor die Temperatur nachgewiesen. Von ausschlaggebender Wichtigkeit für die Tätigkeit der Wurzelbranderreger sind in erster Linie die allgemeinen klimatischen Verhältnisse eines Ortes. Durch künstliche Maßnahmen, in Pflanzgärten z. B. durch Bedeckung der Saatbeete (Saatgitter, Reisig, Moospolster), ist eine Beeinflussung der mikroklimatischen Verhältnisse in bestimmtem Rahmen möglich. Es sei hier auf einige bedeutungsvolle Tatsachen hingewiesen, die sich aus dem 3. Kapitel ergeben (Tabelle 43). Die Bedeckung der Saatbeete mit Gittern schafft in diesen ein von den unbedeckten Beeten stark verschiedenes Sonderklima. Ganz allgemein bewirkt die Bedeckung eine Herabsetzung der Bodentemperatur. wenn man von der gelegentlich vorkommenden, praktisch aber bedeutungslosen Temperaturumkehr (nächtliches Strahlungswetter) absieht. Mit steigender Stärke der Wärmeeinstrahlung machen sich die Temperaturunterschiede bedeckter und unbedeckter Saatbeete in zunehmendem Maße bemerkbar. Die Tatsache, daß gerade die gefährlichsten Wurzelbranderreger wie Pythium de Baryanum und Corticium vagum zur Hauptsache bei Bodentemperaturen innerhalb der Spanne von 15 bis 30°C wirksam sind, gibt die Veranlassung, die Bodentemperaturverhältnisse der Saatbeete mit verschieden starker Bedeckung besonders auf das Vorkommen dieses kritischen Temperaturraumes hin zu überprüfen. Mit steigender Temperatur vergrößert sich der tägliche Zeitraum, der innerhalb der Temperaturgrenzen 15 und 30 °C liegt. Steigt jedoch die mittlere Tagestemperatur des Bodens weiter an und geht die tägliche Kurve mit ihrem Minimal- und Maximalpunkt über 15 bzw. 30 °C hinaus, so verkleinert sich der tägliche Zeitraum, in dem die Temperatur innerhalb der kritischen Spanne von 15 bis 30 °C liegt, in zunehmendem Maße. Infolgedessen vermag die Bedeckung der Saatbeete eine Verkleinerung des für das Auftreten des Wurzelbrandes günstigen Zeitraumes nur solange zu bewirken, als die tägliche Maximaltemperatur des unbedeckten Bodens nicht wesentlich über 30°C steigt. Von dem Zeitpunkt an, wo die Temperatur des unbedeckten Bodens die Grenze 30°C wesentlich überschreitet, bewirkt die Bedeckung der

Saatbeete eine künstliche Verlängerung der Zeitdauer, während der die Temperatur zwischen 15 und 30°C liegt. die die Ausbreitung der am stärksten pathogenen Wurzelbrandparasiten und ihre Angriffsfähigkeit gegenüber dem Wirt begünstigt. Derartige Verhältnisse kommen in den 1932 im Pflanzgarten Adlisberg durchgeführten Temperaturbeobachtungen infolge des allgemein kühlen Wetters der Monate Mai und Juni einzig in der Schönwetterperiode vom 11. bis 17. Juni schwach zum Ausdruck (Tabelle 43). Während in diesem Zeitraum die Temperatur des unbedeckten Beetes nur während 14,7 Stunden zwischen 15 und 30°C liegt, befindet sich diejenige des stark bedeckten Saatbeetes während 15,9 Stunden pro Tag innerhalb des kritischen Temperaturbereiches; als entsprechende Periodenmitteltemperaturen sind 25,7 °C (unbedecktes Beet) und 17,9 °C (stark bedecktes Beet) zu nennen. Die im Pflanzgartenbetrieb gemachte Feststellung, daß sich Wurzelbrandepidemien gerade in bedeckten Saatbeeten häufig stärker geltend machen als in unbedeckten, dürfte teilweise auf die erwähnten besonderen Temperaturverhältnisse zurückzuführen sein. Da die Fusarien einen in bezug auf die Temperatur höher gelegenen Wirkungsbereich besitzen (24 bis 33 °C), so läßt sich bei diesen durch Temperaturerniedrigung (Saatbeethedeckung) ein etwas weiter reichender Schutz gegen Befall erzielen als bei Pythium de Baryanum und Corticium vagum.

Unter natürlichen Verhältnissen im Wald wie auf Kahlflächen, an Schlagrändern und in Bestandeslücken sind die lokalklimatischen Verhältnisse denen des Freilandes häufig sehr ähnlich. Infolgedessen kann gerade an den Orten, wo die natürliche Verjüngung der Nadelhölzer häufig die günstigsten klimatischen Bedingungen in bezug auf Licht, Temperatur, Niederschläge und Bodeneigenschaften genießt, sicher Wurzelbrand auftreten. Inwieweit die Wurzelbranderreger ihre aktive Tätigkeit auch auf unter lichtem oder dichtem Bestandesschluß stehende Keimpflanzen auszudehnen vermögen, ist eine Frage, die nur an Hand gründlicher Temperaturstudien gelöst werden könnte. Einen Hinweis auf die Bedeutung dieses Problems geben die in den Waldungen Lindberg der Stadt Winterthur 1930 (Tabelle 1) gemachten Beobachtungen. Wie die Temperaturmessungen der forstlich-meteorologischen Stationen nachweisen (Mitteilungen der schweizerischen Zentralanstalt für das forstliche Versuchswesen, 1891 bis 1898), treten allerdings auch unter geschlossenen Hochwaldbeständen des schweizerischen Mittellandes Bodentemperaturen auf, die das Vorkommen von Wurzelbrand ermöglichen würden. Die zeitliche Verzögerung des Auftretens hoher Temperaturen unter dem Bestandesschluß ist aber so stark, daß es unwahrscheinlich scheint, daß zur Zeit des Vorkommens dieser hohen Temperaturen sich die Keimpflanzen überhaupt noch in dem für das Zustandekommen der Infektion notwendigen

102 Conrad Roth:

jugendlichen Entwicklungsstadium befinden. Wie auch bei allen Beobachtungen im Pflanzgarten festgestellt werden kann, besitzt die Wirtspflanze in weitgehendem Maße die Möglichkeit, bei relativ niedriger Temperatur, die dem Parasiten keinen erfolgreichen Angriff gestattet, sich über den gefährlichen Zustand, in dem der Befall möglich ist, hinaus zu entwickeln.

Sowohl in Pflanzgärten als im Wald können die lokalklimatischen Verhältnisse in bezug auf die Bodentemperatur durch geeignete Maßnahmen (Bedeckung oder Abdeckung der Saatbeete; bestandespflegliche Eingriffe) bis zu einem gewissen Grade beeinflußt werden. Damit steht die Möglichkeit offen, der Ausbreitung der Parasiten und dem Befall auf rein biologischem Wege vorzubeugen.

Von ausschlaggebender Wichtigkeit für das Auftreten von Wurzelbrandepidemien sind die chemischen Bodeneigenschaften. Im praktischen Forstbetrieb kommt der Azi dität (Wasserstoffionen-Konzentration) als leicht bestimmbarem Ausdruck der chemischen Eigenschaften des Bodens besondere Bedeutung zu. Die Laboratoriumsversuche haben den Nachweis geliefert, daß namentlich alkalische und schwach saure Böden mit einer Azidität von pH 5,5 bis 8.3 den Wurzelbrand in hohem Maße begünstigen. Nur ausgesprochene Humusböden und podsolierte Böden mit stark saurer Reaktion, wie sie namentlich in höheren Gebirgslagen häufig sind, bieten annähernde Sicherheit gegen das Auftreten des Wurzelbrandes. Die Beeinflussung der Bodeneigenschaften des Waldes durch Veränderung der Bestandzusammensetzung und des Bestandesaufbaues ist möglich. Allgemeine Gesichtspunkte verbieten aber eine Beeinflussung des Säuregrades des Waldbodens im Sinne einer Erhöhung der Azidität zum Zwecke einer Schwächung der Tätigkeit der Wurzelbranderreger. Durchführbar ist dagegen eine Beeinflussung des Säuregrades des Bodens im Pflanzgarten. Die Laboratoriumsversuche ergaben als praktisch verwertbaren Säurebereich, der bei größtmöglicher Hemmung der Parasiten (Puthium de Baryanum und ('orticium vagum) Wurzelschädigungen am Wirt vermeidet, für die Fichte den Raum pH 4.2 bis 5.0. Gründliche Veränderungen der Azidität der obersten Bodenschicht ist möglich durch Behandlung mit einer starken anorganischen Säure. In Betracht kommt am ehesten die Verwendung von Schwefelsäure, weniger die Salzsäure, da diese teurer ist und bei nicht gründlicher Auswaschung des Bodens nach unseren Erfahrungen die Saaten bedeutend stärker schädigen kann. Die zu verwendenden Säuremengen sind von Boden zu Boden verschieden; sie lassen sich nur auf experimentellem Wege und durch Messung der Bodenazidität zuverlässig bestimmen. Namentlich schwere, tonig-lehmige Böden mit hohem Kalkgehalt, einer Wasserstoffionen-Konzentration kleiner als pH 7,0 und starker Pufferung setzen einer künstlichen Veränderung des Säuregrades bedeutenden Widerstand entgegen. Die Schädigungen, die Fichtensaaten durch stärker alkalische Werte als pH 8,1 erleiden, verhindern die Verwendung extrem basischer Böden als Vorbeugungsmittel gegen Wurzelbrand. Dagegen besteht die Möglichkeit, daß ein Verfahren, bei dem dem Boden alkalische Verbindungen (Kalk, Pottasche, usw.) zur Herabsetzung der Wasserstoffionen-Konzentration zugesetzt werden, auf von Natur aus stark alkalischen Böden bei Saaten mit Pinus-Arten praktisch anwendbar ist. Kiefernsamen und -Keimpflanzen zeigen im Gegensatz zur Fichte bedeutende Unempfindlichkeit gegen stark alkalische Böden. Nach Schmidt (1927) liegt die optimale Entwicklung von Pinus silvestris in der Nähe der Azidität pH 7,0, diejenige der Fichte bei pH 5,4 bis 6,3.

Die in der Forstwirtschaft übliche Bekämpfung des Wurzelbrandes wird nach Hartley und Pierce (1917), Hansen, Kenety, Wiggin und Stakman (1923) durch Übergießen des Bodens unmittelbar nach der Saat mit einer wässrigen Lösung von Schwefelsäure, Kupfersulfat, Zinkchlorid oder Formaldehyd durchgeführt. Christoff (1933) will gute Erfahrungen mit Essigsäure, Borsäure und Germisan (Handelsprodukt) gemacht haben. Ob es sich bei Verwendung dieser Stoffe, die das Auftreten des Wurzelbrandes hemmen, lediglich um momentane Desinfektionswirkung handelt, oder ob die Tätigkeit der Parasiten auf indirektem Wege durch Veränderung des Säuregrades des Bodens gehemmt wird, ist nicht festgestellt worden. Es darf jedoch angenommen werden, daß gerade die sichere Wirkung der Schwefelsäure darauf zurückzuführen ist, daß sie bei nicht zu starker Pufferung des Bodens nicht nur eine momentane Desinfizierung des Bodens bewirkt, sondern den Boden selbst chemisch zu verändern vermag. Eine nachträgliche Schädigung der Keimpflanzen durch die entstehenden Austauschprodukte ist bei Verwendung der Schwefelsäure nicht zu befürchten (Gips). Nicht zu empfehlen ist nach unseren Erfahrungen die allerdings den Säuregrad des Bodens leicht verändernde Essigsäure, da sie eine starke Dispergierung des Bodens, d. h. eine vollständige Zerstörung der Bodenstruktur bewirken kann. Abgesehen von diesen vorbeugenden Maßnahmen zur Verhinderung des Auftretens des Wurzelbrandes, die vor oder bei der Saat durchgeführt werden, sind bis heute keine wirksamen, praktisch verwendbaren Verfahren bekannt. um Wurzelbrandenidemien im Augenblick des Befalles auf chemischem Wege wirksam bekämpfen zu können, ohne daß gleichzeitig eine Schädigung der Keimpflanzen erfolgt.

Als weiterer Faktor beeinflußt der Wassergehalt des Bodens die Stärke des Wurzelbrandes. Aus den Ergebnissen der Laboratoriumsversuche läßt sich ersehen, daß nur sehr geringer und sehr hoher Wassergehalt den durch die virulentesten Parasiten (Pythium de Baryanum und Corticium vagum) an Keimpflanzen über Boden verursachten Befall herabzusetzen vermögen. Im Pflanzgarten ist durch geeignete Maßnahmen eine zweckmäßige Beeinflussung der vorliegenden Feuchtigkeitsverhältnisse des Bodens möglich. Bei klarem warmen Wetter wird in der Regel eine

zielbewußte Trockenhaltung der Saaten durch Abdecken der Saatbeete erfolgreich sein. Bei bedecktem nassem Wetter mit hoher Temperaturkann hingegen nur eine ständige Feuchthaltung des Bodens die Ausbreitung des Parasiten wirksam hemmen. Ein solches Vorgehen ist nur möglich in schweren, nicht leicht wasserdurchlässigen Böden. Im Walde scheint eine Störung der Wirksamkeit von Wurzelbranderregern durch Anwendung aller die Bodenaustrocknung fördernden Maßnahmen durchführbar zu sein.

Der Einfluß der Luftfeuchtigkeit auf das Auftreten des Wurzelbrandes ist bis heute nicht abgeklärt. Es liegt aber in der Natur zahlreicher Parasiten, daß sie durch hohe Luftfeuchtigkeit in ihrer Lebenstätigkeit über Boden günstig beeinflußt werden. Während Pythium de Baryanum infolge seiner Fähigkeit, unter der Bodenoberfläche wirksam zu sein, voraussichtlich geringe Abhängigkeit seiner pathogenen Tätigkeit von der Luftfeuchtigkeit zeigt, ist die Wirksamkeit des oberflächlich wachsenden Corticium vagum vermutlich stark an hohe Luftfeuchtigkeit gebunden. Unzweifelhaft ist auch die teilweise über der Bodenoberfläche erfolgende Befallstätigkeit der Fusarien von hoher Luftfeuchtigkeit abhängig. Mangelnde Luftbewegung, hervorgerufen durch die auf den Beeten der Pflanzgärten liegenden Saatgitter oder durch dichten seitlichen Schluß um Stellen mit natürlicher Verjüngung im Bestand ("Löcher") verursacht hohe Luftfeuchtigkeit und verstärkte Pilztätigkeit. Schaffung von Luftbewegung durch Entfernung der Deckgitter oder durch zweckentsprechende Eingriffe im Bestand ist als Abwehrmaßnahme gegen Wurzelbrand zu nennen.

Von nicht zu unterschätzender Bedeutung für die Verbreitung und Wirksamkeit der Wurzelbranderreger, namentlich der Parasiten mit vorwiegender Entwicklung an der Bodenoberfläche (Corticium vagum) scheint der Einfluß der Sonnenstrahlung zu sein. Die Ausbreitung der Pilze auf der Bodenoberfläche wird vermutlich nicht nur durch die starke Erhitzung der obersten Bodenschicht (Wärmestrahlung) gehemmt, sondern auch durch den Einfluß der chemisch wirksamen Strahlen auf das Myzelwachstum. In Anbetracht dieser Möglichkeiten scheint eine Begünstigung des freien Lichtzutrittes im Falle einer Gefährdung der Saaten durch Wurzelbrand angezeigt zu sein. Eine Schädigung der unbedeckten Saaten durch Hitzewirkung dürfte in unseren Gegenden zu der Jahreszeit, in der die Keimpflanzen durch den Wurzelbrand gefährdet sind (Mai-Juni), namentlich auf schweren Böden selten vorkommen. Allerdings beschreiben Münch (1913, 1914) und Hartley (1913, 1918) Hitzeschäden an Keimpflanzen. Diese vereinzelten Feststellungen lassen jedoch erkennen, daß Hitzeschäden gegenüber den viel häufigeren und ausgedehnteren Keimlingsschädigungen durch Wurzelbrand keine nennenswerte Bedeutung besitzen.

### Zusammenfassung.

- 1. Wurzelbrand an keimenden Nadelholzsaaten wurde im Frühjahr 1931 in zahlreichen Pflanzgärten der Schweiz festgestellt.
- 2. Die Isolierung der Wurzelbranderreger aus befallenen Pflanzen ergab Reinkulturen von Pythium de Baryanum Hesse, von verschiedenen Fusarium-Arten (Fusarium bulbigenum C. et M. v. blasticola [Rostr.]) und Corticium vagum B. et C.
- 3. Durch Laboratoriumsversuche wurde der Einfluß von Temperatur, Azidität des Bodens, Wassergehalt des Bodens und Alter der Keimpflanzen auf den Befallsvorgang unter konstanten Versuchsbedingungen experimentell nachgeprüft.
- 4. Die Parasiten sind in ihrer Befallstätigkeit in hohem Maße von den Umweltsverhältnissen abhängig. Für das Auftreten und die Stärke des Wurzelbrandes ist die durch die Umweltsverhältnisse verursachte unterschiedliche vegetative Wachstumsfähigkeit der Parasiten auf dem Boden in erster Linie von Wichtigkeit und nicht die verschiedene Virulenz. Erhöhte Bedeutung kommt der Virulenz nur dann zu, wenn der Pilz über die ganze Oberfläche eines Standortes verbreitet ist. Virulenz und vegetatives Myzelwachstum werden nicht in gleicher Weise von Temperatur, Azidität und Wassergehalt des Bodens beeinflußt. Die beiden Größen zeigen vielmehr häufig abweichendes oder sogar entgegengesetztes Verhalten in ihrer Abhängigkeit von den Umweltsverhältnissen. Da dem linearen Myzelwachstum bei der Befallstätigkeit weitaus größere Bedeutung zukommt als der Virulenz, so sind die aus den Wachstums-Infektionsversuchen ermittelten Beziehungen in erster Linie von praktischer Bedeutung.
- 5. Gerade die pathogensten Wurzelbranderreger zeichnen sich durch außerordentlich rasches lineares Myzelwachstum aus und besitzen infolgedessen bedeutende Verbreitungsmöglichkeit und Befallsfähigkeit.
- 6. Pythium de Baryanum und Corticium vagum, die beiden virulentesten, Wurzelbrand verursachenden Arten verhalten sich in ihrer Befallstätigkeit an Keimpflanzen unter Boden (Keimverlust) und über Boden grundsätzlich verschieden. Bei annähernd gleicher pathogener Tätigkeit über Boden erweist sich Pythium de Baryanum unter Boden immer bedeutend virulenter als Corticium vagum. Fusarium bulbigenum v. blasticola und Fusarium moniliforme vermögen nur schwachen Keimverlust zu verursachen. Befall an Keimpflanzen über Boden tritt erst nach mindestens zehntägiger Inkubationszeit auf.
- 7. Corticium vagum wird durch extreme Außenverhältnisse (Temperatur, Azidität) in seiner parasitischen Tätigkeit bedeutend stärker eingeschränkt als Pythium de Baryanum. Die Versuche weisen nach, daß diese Erscheinung nicht auf Hemmungen im vegetativen Wachstum von Corticium

vagum zurückzuführen ist, sondern auf die durch extreme Temperatur- und Aziditätsgrade verursachte Schwächung der Virulenz.

8. Pythium de Baryanum ist der bedeutendste Wurzelbranderreger bei tiefen Temperaturen, obschon die vegetative Wachstumsfähigkeit von Corticium vagum bei tiefen Temperaturen verhältnismäßig größer ist. Auch nach oben ist der pathogene Tätigkeitsbereich von Corticium vagum bedeutend stärker eingeengt als derjenige von Pythium de Baryanum. Allerdings wird die Virulenz von Pythium de Baryanum durch hohe Temperaturen erheblich geschwächt; infolge der hohen Wachstumsfähigkeit ist indessen das Befallsvermögen selbst bei 33°C sehr bedeutend. Temperaturen über 30°C verhindern Wurzelbrand durch Corticium vagum vollständig. Einen stark eingeengten Wirkungsbereich besitzen Fusarium bulbigenum v. blasticola und Fusarium moniliforme. Nur langandauernde Temperaturen von 24 bis 33°C geben ihnen die Möglichkeit, bedeutenden Befall zu verursachen.

Der Temperaturraum 15 bis 33°C ermöglicht das Auftreten des Wurzelbrandes im allgemeinen. Am stärksten begünstigt wird die Befallstätigkeit durch Temperaturen von 18 bis 30°C. Da die maximale Wachstumstemperatur des Wirtes (Fichte) unter gleichbleibenden Temperaturverhältnissen in der Gegend von 33°C liegt, kann die Keimpflanze nur in beschränktem Maße durch überoptimale Temperaturen gegen den Angriff durch Pythium de Baryanum und die Fusarium-Arten geschützt werden.

- 9. Die parasitische Tätigkeit von Pythium de Baryanum und Corticium ragum wird nicht nur durch extrem saure Böden (unterhalb pH 5,5) stark gehemmt, sondern auch durch extrem basische. Infolge der Empfindlichkeit des Wirtes (Fichte) gegen stark alkalische Böden kommt nur der Aziditätsbereich von pH 4,2 bis 5,0 für eine wirksame Verhütung des Wurzelbrandes praktisch in Frage.
- 10. Der Wassergehalt des Bodens übt auf die Virulenz der einzelnen Parasiten-Arten und -Stämme bei ihrer Befallstätigkeit unter Boden ganz verschiedenen Einfluß aus. Sehr hoher Wassergehalt (100 %) der absoluten Wasserkapazität) verursacht allgemein größeren parasitären Keimverlust als mittlerer oder geringer Feuchtigkeitsgehalt. Eine andere Abhängigkeit zeigen die Parasiten in ihrer Befallstätigkeit an Keimpflanzen über Boden-Wachstumsfähigkeit und Befallsstärke von Pythium de Baryanum und Corticium vagum werden sowohl durch extrem geringen (50 %), als auch extrem hohen Wassergehalt (100 %) stark gehemmt. Während Pythium de Baryanum hauptsächlich in der Wachstumsfähigkeit durch den Wassergehalt verschieden beeinflußt wird, zeigt sich Corticium vagum vorwiegend in der Virulenz gegenüber dem Wassergehalt empfindlich.
- 11. Mit zunehmendem Alter der Wirtspflanzen wird die Virulenz von Pythium de Baryanum und Corticium vagum geschwächt und die Inkubationszeit erhöht. Infolge der schwach pathogenen Tätigkeit von Corticium vagum

unter Boden ist der durch diesen Pilz verursachte Keimverlust im Gegensatz zu Pythium de Baryanum nur gering.

- 12. Bodentemperaturmessungen in Saatbeeten und meteorologische Beobachtungen haben ergeben, daß das Auftreten von Wurzelbrandepidemien in Pflanzgärten nur möglich ist, wenn während des kritischen Entwicklungszustandes, in dem die Wirtspflanze vom Parasiten befallen werden kann, langandauernde Warmwetterperioden vorkommen und gleichzeitig der Wassergehalt des Bodens den Wurzelbranderregern optimale Entwicklung gestattet.
- 13. "Später Wurzelbrand" an fünf Monate alten Keimpflanzen wurde im Herbst 1930 auf Versuchsflächen im Wald, sowie in zahlreichen Pflanzgärten der Ostschweiz festgestellt. Es wurde eine Abhängigkeit der Befallsstärke von der Bestandesdichte ermittelt. Am stärksten trat der Wurzelbrand auf den Flächen im Freistand auf, gar nicht dagegen unter dem geschlossenen Bestand. Als Erreger wurde eine Fusarium-Art festgestellt.

#### Zitierte Literatur.

- Aaltonen, V. T., 1925. Über den Aziditätsgrad (pH) des Waldbodens. Meddel. Forstvetensk. Försöksanst. Helsinki, 9, S. 1—49.
- Albrecht, W. A. and Jenny, H., 1931. Available soil calcium in relation to "Damping-off" of soy bean seedlings. Botanical Gazette, 92, S. 263—278.
- Anderson, M. L., 1930. A case of "damping-off" induced by the use of wood-ashes as a manure on seed-beds. Scottish Forestry Journal, 44, S. 7—16.
- Appel, O. und Wollenweber, H., 1910. Grundlagen einer Monographie der Gattung Fusarium. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt, 8, S. 1—207.
- Balls, W. L., 1908. Temperature and Growth. Annals of Botany, 22, S, 557-591.
- De Bary, A., 1881. Zur Kenntnis der Peronosporeen. Botanische Zeitung, 39, S. 521-530, 537-544, 553-563, 569-578.
- Baudisch, Fr., 1903. Notizen über Septoria parasitica R. H., Fusoma Pini R. H. und Allescheria Laricis R. H. Centralblatt für die gesamte Forstwirtschaft, S. 461-464.
- Bühler, A., 1892. Saatversuche. Mitteilungen der Schweiz. Zentralanstalt für das forstliche Versuchswesen, 2, S. 33-50.
- Burchard, G., 1929. Beiträge zur Kenntnis parasitischer Pilze. Phytopathologische Zeitschrift, 1, S. 278-315.
- Burgeff, H., 1909. Wurzelpilze der Orchideen. Jena.
- Burger, H., 1922. Physikalische Eigenschaften der Wald- und Freilandböden. Mitteilungen der Schweiz. Zentralanstalt für das forstliche Versuchswesen, 18, S. 1-221.
- Büttner, G., 1903. Über das Absterben junger Nadelholzpflanzen im Saatbeete. Mitteilungen der Deutschen Dendrologischen Gesellschaft, 12. S. 81-82.
- Büttner, G., 1906. Etwas über den Keimlingspilz, Fusoma parasiticum v. Tub. Mitteilungen der Deutschen Dendrologischen Gesellschaft, 15, S. 232.
- Christoff, A., 1983. The "Damping-off" of Coniferous seedlings and its control. Gorski Pregled, 19, S. 9-12.
- Delevoy, G., 1926, 1927. La fonte des semis ou "damping-off". Bull. Soc. Centr. Forest. Belgique, 29, S. 305-315, 364-377; 30, S. 497-505.
- Dounin, M. et Goldmacher, N., 1926. Quelques maladies épidemiques des jeunes plantes dans les pépinières des forêts. Actes du I. Congrès internat. de Sylvicult., 5, S. 284-298.
- Duggar, B. M., 1915. Rhizoctonia crocorum (Pers.) DC. and Rhizoctonia Solani Kühn (Corticium vagum B. and C.), with notes on other species. Ann. Missouri Bot. Gard., 2, S. 403-458.
- Du Hamel, 1728. Explication physique d'une maladie fait périr plusieurs Plantes dans le Gastinois, et particulièrement le Safran. Hist. Acad. Roy. Sciences, Paris, S. 44—45.
- Fischer, E. und Gäumann, E., 1929. Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze. Jena.
- Flor, H. H., 1980. Relation of environmental factors to growth and pathogenicity of *Pythium* isolated from roots of sugar cane. Phytopathology, 20, S. 319—328.
- Gäumann, E., 1926. Vergleichende Morphologie der Pilze. Jena.
- Gäumann, E., Roth, C. und Anliker, J., 1934. Über die Biologie der Herpotrichia nigra Hartig. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 44, S. 97-116.
- Gifford, C. M., 1911. The damping-off of coniferous seedlings. Vt. Agr. Exp. Sta. Bul., 157, S. 148-171.

- Hansen, T. S., Kenety, W. H., Wiggin, G. H. and Stakman, E. C., 1928. A study of damping-off disease of coniferous seedlings. Minnesota Agr. Exp. Sta. techn. Bull., 15, S. 1—35.
- Hartig, R., 1883. Beschädigung der Nadelholzsaatbeete durch Phytophthora omnivora (Fagi). Forstwirtschaftliches Centralblatt, 27, S. 593-596.
- Hartig, R., 1892. Ein neuer Keimlingspilz. Forstlich-naturwissenschaftliche Zeitschrift, 1, S. 482-436.
- Hartig, R., 1900. Lehrbuch der Pflanzenkrankheiten. 3. Auflage, S. 67, 116-118.
- Hartley, C., 1913. The bliths of coniferous nursery stock. U. S. Dept. Agr. Bull., 44, S. 1-21.
- Hartley, C., 1918. Stem lesions caused by excessive heat. Journ. agr. res., 14, S. 595-604.
- Hartley, C., 1921. Damping-off in forest nurseries. U. S. Dept. Agr. Bull., 934, S. 1-99.
- Hartley, C., Merrill, T. C. and Rhoads, A. S., 1918. Seedling diseases of conifers. Journ. agr. res., 15, S. 521-558.
- Hartley, C. and Pierce, R. G., 1917. The control of damping-off of coniferous seedlings. U. S. Dept. Agr. Bull., 453, S. 1-32.
- Hawkins, L. and Harvey, B., 1919. Physiological study of the parasitism of Pythium de Baryanum Hesse on the potato tuber. Journ. agr. res., 18, S. 275-297.
- Hemmi, T., 1923. On the relation of temperature to the damping-off of garden-cress seedlings by *Pythium de Baryanum* and *Corticium vagum*. Phytopathology, 13, S. 273 bis 282.
- Hesse, R., 1874. Pythium de Baryanum, ein endophytischer Schmarotzer... Inaugural-Dissertation, Göttingen.
- Jones, L. R., 1917. Soil temperatures as a factor in Phytopathology. Plant World, 20, S. 229-237.
- Lindfors, T., 1922. Studier över Fusarioser. Centralanst. Försöksväsendet på jordbruksområdet., 238, S. 1—24.
- Marshall, R., 1931. An experimental study of the water relations of seedling conifers with special reference to wilting. Ecological Monographs, 1, S. 38—98.
- Matsumoto, T., 1921. Physiological specialisation in *Rhizoctonia Solani* Kühn. Ann. Missouri Bot. Gard., S. S. 63-96.
- Michaelis, L., 1910. Methoden zur Herstellung bestimmter Wasserstoffionen-Konzentrationen. Abd. Hdb. Bioch. Arb., 3, S. 1334.
- Mitteilungen der Schweiz. Zentralanstalt für das forstliche Versuchswesen, 1891-1898. 1-6.
- Mork, E., 1933. Temperaturen som foryngelsesfactor i de nordtrønderske granskoger. Meddel. Norske Skogversøksvesen, 5, 1, S. 1—153.
- Münch, E., 1913. Hitzeschäden an Waldpflanzen. Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Forst- und Landwirtschaft, 11, S. 557-562.
- Münch, E. 1914. Nochmals Hitzeschäden an Waldpflanzen. Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft, 12, S. 169—188.
- Neger, F. W., 1910. Pathologische Mitteilungen aus dem Botanischen Institute der Kgl. Forstakademie Tharandt. 3. Über bemerkenswerte, in sächsischen Forsten auftretende Baumkrankheiten. Tharandter forstliches Jahrbuch, 61, S. 141—167.
- Neger, F. W., 1919. Die Krankheiten unserer Waldbäume. Stuttgart.
- Neger, F. W. und Büttner, G., 1907. Über Erfahrungen mit der Kultur fremdländischer Koniferen im akademischen Forstgarten zu Tharandt. Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft, 5, S. 204—210.
- 1 allmann, H., 1930. Die Wasserstoffaktivität in Dispersionen und kolloiddispersen Systemen. Kolloidch. Beih., 30, 8-12.

- Peltier, G. L., 1916. Parasitic Rhizoctonias in America. Illinois Agr. Exp. Sta. Bull., 189. S. 283-390.
- Rathbun, A.E., 1921. Methods of direct inoculation with damping-off fungi. Phyto-pathology, 11, S. 80-84.
- Rathbun, A. E., 1922. Root rot of pine seedlings. Phytopathology, 12, S. 213-220.
- Rathbun, A. E., 1923. Damping-off of taproots of conifers. Phytopathology, 18, S. 385 bis 391.
- Rathbun-Gravatt, A., 1925. Direct inoculation of coniferous stems with damping-off fungi. Journ. agr. res., 30, S. 327-339.
- Rathbun-Gravatt, A., 1931. Germination loss of coniferous seeds due to parasites. Journ. agr. res., 42, S. 71 92.
- Richards, B. L., 1921. Pathogenicity of *Corticium vagum* on the potato as affected by soil temperature. Journ. agr. res., 21, S. 459—482.
- Schellenberg, H. C., 1905. Die wichtigsten Pilzfunde aus dem Ofengebiet und Scarltal. S. 51. In: Coaz, J., Schröter, C. und Schellenberg, H. C.: Ein Besuch im Val Scarl. Bern.
- Schmidt, W., 1927. Reaktionsempfindlichkeit von Keimlingen. Mitteilungen der Waldsamenprüfungsanstalt Eberswalde. Forstarchiv, S. 81, 133.
- Sibilia, G., 1925. Due specie di Fusarium parasite di piantine di conifere: Fusarium fuliginosporum e Fusarium echinosporum Sib. Ann. R. Ist. Sup. Agr. Forestale, 2, 1, S. 77-97.
- Sibilia, G., 1928. Die Bekämpfung von Bodenpilzen in Koniferen-Baumschulen. Nachr. Schädlingsbek., 3, S. 109-112.
- Sorauer, P., 1899. Der "Vermehrungspilz". Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, 9, S. 321-328.
- Sorauer, P., 1908. Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. 2, Berlin.
- Sorauer, P., 1928. Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. 3, Berlin.
- Tubeuf, C. von, 1902. Fusoma-Infektionen. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt, 2, S. 167-168.
- Tubeuf, C. von, 1908 (?). Beitrag zur Kenntnis der Fusarien-Krankheiten unserer Kulturpflanzen. Mitteilungen der Kgl. Bayerischen Moorkulturanstalt.
- Tubeuf, C. von, 1914. Hitzetot und Einschnürungskrankheiten der Pflanzen. Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft, 12, S. 19-36.
- Tanja, A. E., 1933. Uutersuchungen über Gibberella Saubinetii (Dur. et Mont.) Sacc. und die Fusariose des Weizens. Phytopathologische Zeitschrift, 5, S. 375-428.
- Webb, R. W., 1921. Germination of the spores of certain Fungi in relation to hydrogen-ion concentration. Ann. Missouri Bot. Gard., 8, S. 283-341.
- Wiegner, G., 1926. Anleitung zum quantitativen agrikulturchemischen Praktikum. Berlin.
- Wollenweber, H. W., 1913. Pilzparasitäre Welkekrankheiten der Kulturpflanzen. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft. 31, S. 17—34.

# Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Bonn-Poppelsdorf.

# Untersuchungen über die Kälteresistenz winterfester Kulturpflanzen unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses verschiedener Mineralsalzernährung und des N-Stoffwechsels.

Von

A. F. Wilhelm.

Mit 1 Textabbildung.

## A. Einleitung und Ziel der Untersuchungen.

Bekanntlich besteht zwischen dem Trockensubstanzgehalt, dem Zuckergehalt der Pflanzen, dem osmotischen Wert und dem Refraktometerwert des Preßsaftes, der wasserhaltenden Kraft und Adsorptionsfähigkeit der Zellkolloide einerseits und der Frostresistenz andererseits im allgemeinen eine engere Beziehung nur bei beinahe verwandten und außerdem unter gleichen Bedingungen aufgewachsenen, abgehärteten Pflanzen. Entstammen die Pflanzen weiteren Verwandtschaftskreisen oder wachsen sie unter verschiedenen Licht-, Feuchtigkeits- und Temperaturverhältnissen, so lassen die genannten Kriterien einen engeren Zusammenhang mit der Frostresistenz vermissen. Zuckergehalt, osmotischer Wert usw. bestimmen demnach nicht unmittelbar die Frostresistenz der Pflanzen, sondern ihre Wirkung ist mehr zusätzlicher Art. Das geht besonders deutlich aus unseren kürzlich veröffentlichten Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung auf die Kälteresistenz unserer Hauptgetreidearten hervor. (Schaffnit und Wilhelm 36). Es ergab sich, daß die verschieden ernährten, aber unter sonst gleichen Bedingungen gehaltenen Pflanzen deutliche Unterschiede in ihrer relativen Frosthärte aufwiesen. Ferner wurde gefunden, daß die relative Frostwiderstandsfähigkeit bei 24-stündiger Einwirkung verhältnismäßig tiefer Temperaturen eine andere war als bei länger dauernder Abkühlung auf weniger tiefe Temperaturen. In dem gleichzeitig an den nämlichen Pflanzen bestimmten Zucker- und Trockensubstanzgehalt, dem osmotischen Wert, dem Refraktometerwert oder der Wasserstoffionenkonzentration konnte keine Basis für eine ursächliche Erklärung dieses Befundes gesehen werden.

Die eben erwähnten Untersuchungen finden ihre Fortsetzung in den folgenden Arbeiten, deren Ziel es ist, weitere physiologische Veränderungen,

die Pflanzen verschiedener Kälteempfindlichkeit bei niederen Temperaturen und unter verschiedenen Außenbedingungen erleiden, näher zu analysieren und in ihrer Auswirkung auf die jeweils gleichzeitig im künstlichen Kühlversuch festzustellende Frostresistenz kennenzulernen. Die nachstehende Arbeit befaßt sich mit dem Verhalten winterannueller Kulturpflanzen, während in einer, an gleicher Stelle erscheinenden Mitteilung (47) über Versuche mit sogenannten nicht eisbeständigen Pflanzen berichtet wird. Eine dritte Mitteilung (48) handelt über Untersuchungen, die die Bedeutung der Lipoide und speziell der Phosphatide für die Frostresistenz dartun.

Die vorliegende Arbeit zerfällt in zwei Teile. In dem ersten Teil wird vor allem die relative Frostwiderstandsfähigheit der nach verschiedenen Gesichtspunkten ausgewählten und unter wechselnden Bedingungen gehaltenen Pflanzen mitgeteilt. Die in diesem Zusammenhang ausgeführten Versuche ergänzen z. T. unsere früheren Resultate; sie erweitern sie durch Einbeziehung neuer Versuchspflanzen (Raps und Spinat) und vor allem durch eine weitergehende Abstufung der Nährstoffgaben, sowie durch Anzucht bei verschieden hoher Bodenfeuchtigkeit.

Im Hinblick auf die Tatsache des unterschiedlichen Resistenzverhaltens verschieden ernährter Pflanzen bei kürzerer und längerer Gefrierdauer sind auch Getreidesorten bekannter Frostresistenz unter beiden Kühlbedingungen auf ihre Widerstandsfähigkeit geprüft worden. Anschließend daran wurde die Frostresistenz hygrophytischer und xerophytischer Sorten festgestellt. Die physiologischen Untersuchungen beschränkten sich auf die Bestimmung des osmotischen Wertes und des Wassergehaltes.

Der zweite Teil der Arbeit befaßt sich mit dem Studium der unter dem Einfluß niederer Temperaturen erfolgenden Änderungen des N-Stoffwechsels. Der N-Haushalt wurde einerseits bei verschiedenen Getreidesorten, andererseits bei Gersten- und Rapspflanzen in Abhängigkeit von verschiedener Mineralsalzernährung untersucht.

### B. Versuche.

### 1. Teil.

Frostresistenzbestimmungen an winterannuellen Pflanzen bei länger und bei kürzer dauernder Einwirkung tiefer Temperaturen unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses verschiedener Mineralsalzernährung, der Bodenfeuchtigkeit und des hygrophytischen und xerophytischen Sortencharakters.

## Die Methodik.

Die Arbeitsweise und die benutzten Einrichtungen sind in der letzten Veröffentlichung ausführlich beschrieben, so daß hier nur das Wichtigste angegeben zu werden braucht. Die

Anzucht der Pflanzen erfolgte in Vegetationsgefäßen von zehn Liter oder in viereckigen Töpfen von etwa zweieinhalb Liter oder zu besonderen Zwecken in Kisten von größerem Fassungsvermögen. Die Gefäße wurden nach Austarieren mit Kies mit 9 bzw. 2,5 kg Sandtorfgemisch gefüllt und nach Zugabe der Nährstoffe durch regelmäßiges Wiegen auf dem gewünschten Wassergehalt, der gewöhnlich 60% der vollen Kapazität betrug, gehalten. Während der Anzucht standen die Pflanzen in einer ungeheizten Vegetationshalle. An Versuchsräumen mit konstant zu haltenden Temperaturen standen drei kleine Gewächshäuser, ein großer Dunkelraum und ein Tiefkühlschrank zur Verfügung. Während der Tiefkühlschrank unmittelbar durch die ihn allseitig umspülende kalte Sole der Kälteanlage gekühlt wird, erreicht man in den anderen Räumen durch Zufuhr kalter Luft die gewünschte niedrige Temperatur. Die Temperaturen werden automatisch reguliert und durch Ventilatoren oder besondere Vorrichtungen innerhalb der einzelnen Räume ausgeglichen.

Die Kälteresistenz wurde durch die Bestimmung des Schädigungsgrades festgestellt, indem bei den Getreidearten das Trockengewicht der lebenden und toten oberirdischen Pflanzenteile bestimmt oder indem bei Spinat und Raps die Schädigung nach dem Augenschein abgeschätzt wurde. Über die Ausführung der chemisch-physiologischen Bestimmungen wird zweckmäßiger erst an den einschlägigen Stellen berichtet.

## Der Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung auf die Kälteresistenz von Roggen und Hafer bei längerer Gefrierdauer.

Während in unseren früheren Versuchen Weizen und Gerste bei den gebrauchten Düngergaben 1) und bei Verwendung von gewöhnlichem, nicht völlig nährstoffreiem Flußsand als Substrat gute Ernährungsunterschiede zeigten, trat unter denselben Bedingungen bei Roggen und Hafer wohl infolge ihres hohen Aneignungsvermögens für Mineralstoffe die Mangelernährung nicht so deutlich hervor. Ferner konnten die Dauerkühlversuche mit diesen Pflanzen wegen der im Frühjahr erhöhten Betriebskosten der Kälteanlage nicht zu Ende geführt werden.

Letztere Versuche sind daher Anfang 1933 nachgeholt worden, wobei als Substrat ein Teil reiner, praktisch nährstoffreier Quarzsand und ein Teil mit Regenwasser mehrmals gewaschener Flußsand, mit 6% Torf gemischt, verwendet wurde. Die bekannten Ernährungsunterschiede machten sich unter diesen Bedingungen deutlich bemerkbar. Als Versuchspflanzen dienten von Lochows Petkuser Winterroggen und Griesings Sporen-Winterhafer. Die Aussaat erfolgte am 13. Januar bzw. 2. Januar. Die Anzucht fand in der Vegetationshalle statt. Am 5. März kamen die Pflanzen zur Abhärtung in die Kältezellen bei einer Temperatur von +2% C  $\pm 1\%$  C zu stehen. Die Pflanzen befanden sich zu diesem Zeitpunkt im Stadium des Bestockens. Am 23. März wurden sie in den Dunkelraum gebracht, wo die Temperatur anfangs -2% C betrug und innerhalb 24 Stunden auf -7% C sank. Das Resultat der Versuche ist in Tabelle 1 und 2 zusammen-

1) Die Düngung betrug auf 2,5 kg Sandtorf für je zwölf Pflanzen in den Normalreihen 0,95 g Ammonnitrat, 0,58 g Kaliumchlorid und 0,44 g Monokalziumphosphat. Die Mangelpflanzen blieben ohne Zusatz der betreffenden Nährstoffe; die Überschußpflanzen erhielten die doppelte Nährstoffgabe. gestellt. Die Zahlen geben das Trockengewicht der abgestorbenen Pflanzenteile in Prozenten des Trockengewichtes der gesamten oberirdischen Pflanzenteile an. Das typische Schadbild, das sich nach hinreichender Abhärtung bei allen Getreidearten in gleicher Weise darstellt, ist in der Abbildung 1 für die K+- und K--Pflanzen von Hafer, der vom 23. März bis 1. April bei  $-7^{\circ}$  C gefroren war, festgehalten.

Tabelle 1.

Frostresistenz von verschieden ernährtem Roggen, bei —7° C gefroren.

Tote Teile in Prozenten der oberirdischen Pflanzenmasse.

Ernährung	n	к+	К —	N	N —	P+	P
Gefroren vom  23. März bis 29. April 23. März bis 2. Mai 23. März bis 8. Mai	45,16	21,50	84,12	80,92	19,48	48,42	30,40
	65	28,79	92,38	91,78	20,59	68,92	43,59
	81,23	42,47	100	96,04	54,18	85,06	70,19

Tabelle 2.

Frostresistenz von verschieden ernährtem Hafer, bei — 7° C gefroren.

Tote Teile in Prozenten der oberirdischen Pflanzenmasse.

Ernährung	n	К  -	к —	N+	N —	P +	P —
Gefroren vom  23. März bis 29. März 23. März bis 1. April 23. März bis 4. April	75,81	35,38	82,35	80,59	26,32	76,92	61,11
	78,43	40,26	100	91,38	40	81,08	81,40
	83,33	52,86	100	100	60,71	90,2	83,33

Tabelle 3.

Roggen vom 23. März bis 29. April bei — 7° C gefroren.

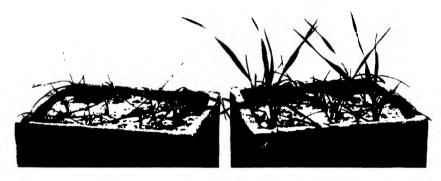
Trockengewicht in Prozenten des Frischgewichtes (2. und 3. Blatt).

Ernährung	n	K+	К —	N+	N	P+	P —
	40,90	33,33	35,31	38,75	49,77	50,14	47,87

Ergebnis: Wie aus der Übersicht klar hervorgeht, erwiesen sich die K+- und N-- Pflanzen als am widerstandsfähigsten; etwas geringer als bei den genannten war die Resistenz der P-- Pflanzen; am wenigsten resistent waren die K-- und N+- Pflanzen, während die n- und P+- Pflanzen einen mittleren Schädigungsgrad zeigten. Der Hafer war in diesen Versuchen viel weniger widerstandsfähig als im vorhergehenden Jahr. wo er, vom 19. April bis 11. Mai unter den nämlichen Bedingungen gehalten, danach keine nennenswerte Schädigung erkennen ließ. Es konnte früher schon darauf hingewiesen werden, daß Ende des Jahres gezogener und im Januar während 24 Stunden gekühlter Hafer bei etwa --- 8°C

erfror, während eine im Januar gemachte Aussaat im April erst bei etwa — 12 °C in gleichem Maße geschädigt wurde. Da die Ernährung, das Alter der Pflanzen, die Anzucht- und Temperaturbedingungen in beiden Fällen ungefähr gleich waren, dürften die Unterschiede vor allem als eine Folge der verschiedenen Lichtverhältnisse, insbesondere der Tagesdauer zu deuten sein.

Bei der langen Dauer der Kälteeinwirkung, die für Roggen bis 45 Tage betrug, könnte man geneigt sein, das Absterben der Pflanzen auf den Wasserverlust, der sich während dieser Zeit einstellen mußte, zurückzuführen. Vergleicht man jedoch die am 29. April in den zweiten und dritten Blättern bestimmten und in Tabelle 3 aufgeführten Trocken-



. Abb. 1. K+ - und K--- - Hafer, während acht Tagen bei  $-7\,^{\circ}\mathrm{C}$  gefroren.

gehalte mit der Entwässerung, die die einzelne Zelle bei - 7 °C infolge der Eisbildung erfuhr, dann läßt sich obige Annahme nicht aufrecht erhalten. Nach unseren Erfahrungen dürfte bei Roggen nach der Abhärtung unter den gewählten Bedingungen der Trockensubstanzgehalt etwa 20%. des Frischgewichtes und die Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes etwa 1,5 °C betragen haben. Betrachten wir nun die Zelle als ein in physikalischem Sinne ideales osmotisches System, dann müßte sich bei einer Temperatursenkung um 1,5 °C, also bei — 3 °C, die Lösungskonzentration verdoppelt haben, mit anderen Worten, die Zelle würde 50 % ihres ursprünglichen Wassergehaltes verloren haben. Bei - 6 °C wären dann nur noch 25% des in der Zelle enthaltenen Wassers in ungefrorenem Zustande vorhanden, d. h. die einzelne Zelle hätte einen Wasserverlust von 3/4 des Ausgangsgehaltes erlitten. Demgegenüber wurde aber der Gesamttrockensubstanzgehalt nur rund auf das Doppelte erhöht. Daraus ergibt sich, daß die einzelne Zelle zu dieser Zeit in höherem Grade infolge der Eisbildung entwässert war als infolge des durch die Transpiration erfolgten Wasserverlustes. Auf ähnlich gelagerte Verhältnisse wird später noch einzugehen sein.

# 2. Der Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung auf die Kälteresistenz von Spinat und Raps.

Bisher ist die Auswirkung verschiedener Mineralsalzernährung auf die Kälteresistenz von sogenannten eisbeständigen Pflanzen nur an Getreide und in geringem Umfang an Reben (Wilhelm 48) untersucht worden. Wenn auch die Annahme naheliegend erschien, daß die bei Gramineen gefundenen Beziehungen zwischen Mineralsalzernährung und Kälteresistenz für sogenannte eisbeständige Pflanzen allgemeine Gültigkeit haben würden. so konnte ein Beweis dafür doch erst durch das Experiment erbracht werden, besonders nachdem sich in orientierenden Versuchen mit Raps ergeben hatte, daß nach nicht genügender Abhärtung und unabhängig von der Ernährung die Blattstiele schon erfroren waren, wenn die Blattspreiten noch keinerlei Schädigung erkennen ließen. In diesem Falle hatte also der vom Gramineentyp abweichende morphologische Bau zu anderen als den erwarteten Ergebnissen geführt. Zu den folgenden Versuchen sind wieder landwirtschaftlich wichtige Kulturpflanzen ausgewählt worden, nämlich Winterraps und Winterspinat. Die Anzucht und Düngung der Pflanzen erfolgte in derselben Weise wie bei den Getreideversuchen. Der Schädigungsgrad dieser Pflanzen wurde durch eine kurze Beschreibung des Schadbildes etwa acht Tage nach Beendigung der Kühlung oder durch Auszählung der völlig abgestorbenen Pflanzen festgehalten. Bei der Ungleichwertigkeit der erfrorenen Pflanzenteile war die gewichtsmäßige Bestimmung der abgestorbenen und überlebenden Pflanzenmasse zur Feststellung der Resistenzreihe nicht mit der gleichen Genauigkeit anwendbar wie bei Gramineen und wurde in diesen Versuchen nur einmal gebraucht. Wie aus den Protokollen ersichtlich ist, sind die Pflanzen in dem Stadium der Kältewirkung ausgesetzt worden, das sie in der Natur mit dem Eintritt der kalten Witterung gewöhnlich erreichen. Die Ernährungsmerkmale traten in allen Fällen klar zutage. Die Kühlung wurde in der nämlichen Weise wie bei Getreide durchgeführt, indem sowohl tiefere Temperaturen während 24 Stunden als auch weniger tiefe während längerer Zeit zur Anwendung kamen.

# a) Versuche mit Spinat.

Die Aussaat der Sorte "Bonner Riesen" erfolgte am 29. Oktober 1932, die Anzucht in der Vegetationshalle; die Abhärtung wurde bei  $+2^{\circ}$  (' $\pm$ 1° ('vom 1. April 1933 ab durchgeführt. Der Habitus der Pflanzen entsprach völlig dem von Freilandpflanzen. Abgesehen von den jüngsten Blättchen, soweit sie weniger als 3 cm lang waren, hatten die normal ernährten Pflanzen etwa vier Blätter von 6 bis 10 cm und zwei bis vier Blätter von 3 bis 6 cm Länge ausgebildet.

Versuch 1: Am 13. April 1933. Gefrierdauer 24 Stunden, Temperatur —  $8^{\circ}$  C, Pflanzen vorher bei  $+2^{\circ}$  C  $\pm$  1° C; Ergebnis beurteilt am 16. April:

n: Zwei bis drei älteste Blätter gelb, sonst keine Schädigung.

K+: Unterstes, selten auch zweites Blatt gelb.

K —: Drei bis vier unterste Blätter ganz, die nächsten zwei bis drei Blätter von der Blattspitze aus bis über die Hälfte der Spreite erfroren, jüngere Blätter von etwa 4 cm Länge ab unbeschädigt.

N+: Schädigungsgrad wie bei K-.

N —: Von zwölf Pflanzen acht völlig tot, bei vier Pflanzen leben nur noch jüngste Blättchen.

P+: Zwei bis drei unterste Blätter ganz, zwei bis drei nächste Blätter von der Spitze her bis zu einem Drittel der Blattfläche erfroren.

P -: Von zwölf Pflanzen zehn völlig tot, bei zwei Pflanzen leben nur jüngste Blättchen noch.

Versuch 2: Am 14. April, Gefrierdauer 24 Stunden, Temperatur — 9° C, Pflanzen vorher bei + 2° C  $\pm$  1° C; Ergebnis beurteilt am 18. April:

n: Unterste drei bis vier Blätter völlig, die nächsten zwei bis vier Blätter bis über die Hälfte der Spreite erfroren, jüngste Blätter unversehrt.

K+: Geringere Schädigung als bei n, besonders haben Blätter mittleren Alters deutlich weniger gelitten.

K ---, N | ---, N ---, P +-- und P --- Pflanzen vollständig erfroren

Versuch 3: Am 15. April, Gefrierdauer 24 Stunden, Temperatur — 10°C, Pflanzen vorher 24 Stunden bei — 2°C; Ergebnis beurteilt am 22. April:

n: Drei bis vier unterste Blätter völlig erfroren, die folgenden zwei bis drei Blätter von Spitze und Rand aus bis zur Hälfte der Spreite abgestorben, die jüngsten Blättehen unbeschädigt.

K - : Schädigungsgrad etwas geringer als bei n.

K -: Pflanzen völlig tot.

N † : Von zwölf Pflanzen zehn völlig erfroren, bei zwei Pflanzen leben noch jüngste Blättehen.

N : Völlig erfroren.

P |·· Von zwölf Pflanzen neun tot, bei den übrigen drei Pflanzen nur noch die jüngsten Blättehen gesund.

P -- : Pflanzen völlig tot.

Versuch 4: Am 17. April, Gefrierdauer 24 Stunden, Temperatur — 11 °C, Pflanzen standen vorher 72 Stunden lang bei — 2 °C im Dunkeln; Ergebnis beurteilt am 22. April:

n: Drei bis vier unterste Blätter völlig, drei bis vier mittlere Blätter etwa bis zur Hälfte der Spreite erfroren, die jüngeren Blätter unbeschädigt.

K +: Nur einzelne unterste Blätter völlig erfroren, bei Blättern mittleren Alters in seltenen Fällen nur die Spitzen tot.

K -: Völlig erfroren.

N+: Von elf Pflanzen acht völlig tot, bei den drei übrigen Pflanzen nur noch die jüngsten Blättehen am Leben.

N −: Völlig tot.

P+: Von zwölf Pflanzen zehn erfroren, bei den übrigen zwei Pflanzen leben jüngste Blättchen noch.

P -: Völlig tot.

Versuch 5: Pflanzen, vom 1. April bis 2. Mai bei  $+2^{\circ}$  C  $+1^{\circ}$  C abgehärtet, wurden am 3. Mai auf  $-2^{\circ}$  C und am 4. Mai auf  $-12^{\circ}$  C während 24 Stunden gekühlt. Da sie dadurch keine deutliche Schädigung erlitten hatten, wurden sie am 6. Mai bei  $-15^{\circ}$  C während 24 Stunden erneut gefroren. Ergebnis beurteilt am 16. Mai:

n: Ein bis zwei älteste Blätter vom Rand her auf Mittelrippe zu größtenteils erfroren.

K - : An vier von 12 Pflanzen das älteste Blatt abgestorben.

K -: Alle Pflanzen tot.

N+: Drei Pflanzen völlig tot, bei den übrigen neun Pflanzen die untersten drei bis vier Blätter großenteils ganz erfroren; bei den mittleren Blättern nur die Spitzen beschädigt, die jüngeren Blätter unversehrt.

N -: Sechs Pflanzen tot, bei den übrigen sechs nur noch die jüngsten Blättchen lebend.

P-1. Durchweg zwei bis drei älteste Blätter erfroren.

P -: Alle Pflanzen tot.

Versuch 6: Abhärtung bei | 2° (' \_ ! 1° (' vom 14. April ab. Kühlung bei — 7° (' vom 2. Mai bis 28. Mai 1933. Für je vier Gefäße zusammengefaßtes Ergebnis, beurteilt am 29. Mai:

n: Ein bis zwei unterste Blätter völlig, nächste ein oder zwei Blätter von Spitze und Rand aus auf etwa 5 bis 10 mm erfroren.

K - : Ohne Schädigung, auch älteste Blätter gesund.

K — : Von 45 Pflanzen leben noch 14, die überlebenden durchweg bis auf die jüngsten Blättehen erfroren.

N+: l'nterste zwei bis drei Blätter erfroren, die zwei nächsten etwas mehr geschädigt als bei n.

N-, P+, P-: Wie die n ernährten Pflanzen.

b) Versuche mit Raps.

Die Sorte Lembkes Winterraps wurde am 7. November 1932 ausgesät. Während der Anzucht standen die Pflanzen in der Vegetationshalle. Abgehärtet wurden sie bei  $+2^{\circ}$  C  $+1^{\circ}$  C vom 24. März 1933 ab:

Versuch 1 und 2: Nach 24stündiger Kühlung am 29. bzw. 30. Marz bei — 14° C bzw. — 13° C lebte keine Pflanze mehr.

Versuch 3: Am 2. April, Gefrierdauer 24 Stunden, Temperatur —  $12^{\rm o}$  C; Ergebnis am 12. April:

$$n = \frac{2}{11}; K + = \frac{10}{12}; K - = \frac{0}{12}; N + = \frac{1}{12}; N - = \frac{0}{12}; P + \frac{2}{12}; P - = \frac{0}{12}.$$
 Zähler gibt die überlebenden, Nenner die Gesamtzahl der Pflanzen an.

An den überlebenden Pflanzen waren nur die jüngsten Blättehen unbeschädigt geblieben, bei den K+-Pflanzen zeigten teilweise auch die Blätter mittleren Alters keine Schädigung.

Versuch 4: Am 3. April, Gefrierdauer 24 Stunden, Temperatur — 11° C. Zur gewichtsmäßigen Auswertung dieses Versuches wurde der Stengel direkt unter dem ältesten Blatt abgeschnitten und zu den gesunden Teilen gezählt, wenn mit dem Fortleben der Pflanze gerechnet werden konnte. Die Zahlen geben das Trockengewicht der abgestorbenen Teile in Prozenten des Trockengewichts der gesamten oberirdischen Pflanzenmasse an. n=48,67: K+=30.61; K-=58,85; N+=68,75; N-=82,48; I'+=57,44; I'-=100.

Versuch 5: Kühlung bei -- 7° C vom 4. April bis 2. Mai; Ergebnis beurteilt am 11. Mai 1933:

$$\mathbf{n} = \frac{18}{22}; \ \mathbf{K} + \mathbf{n} = \frac{25}{28}; \ \mathbf{K} - = \frac{0}{32}; \ \mathbf{N} + = \frac{14}{26}; \ \mathbf{N} - = \frac{12}{18}; \ \mathbf{P} + = \frac{17}{27}; \ \mathbf{P} - = \frac{7}{23}.$$

(Betreffs Zeichenerklärung vergleiche Versuch 3.)

Bei den überlebenden Pflanzen waren die älteren und mittleren Blätter fast völlig erfroren; bei den K+-Pflanzen lebten die Blätter mittleren Alters größtenteils völlig, zum Teil waren sie auf etwa die Hälfte der Spreite zurückgefroren. Bei den P--Pflanzen schienen besonders die Wurzeln sehr stark geschädigt worden zu sein und das Eingehen der Pflanzen verursacht zu haben.

Ergebnis: Die Gefrierversuche bei 24stündiger Einwirkung relativ tiefer Temperaturen haben demnach für Raps und Spinat übereinstimmend ergeben, daß die Frostresistenz von K-, N- und P-Mangelpflanzen unter diesen Bedingungen am geringsten und die von reichlich mit Kali ernährten Pflanzen am größten war. Durch P- und besonders N-Überernährung wurde im Vergleich zu den n-ernährten Pflanzen die Widerstandsfähigkeit gleichfalls verringert. Bei der länger dauernden Kühlung auf — 7° C trat wieder der K-Einfluß deutlich hervor, indem die Pflanzen bei K-Mangelernährung die geringste, die K-Überschußpflanzen die höchste Resistenz aufwiesen. N- und P-Mangel führte bei Spinat gegenüber normaler Ernährung zu keinem Unterschied. Bei Raps waren unter diesen Bedingungen die N- -Pflanzen nicht ganz so resistent wie die n-ernährten, aber etwas widerstandsfähiger als die N+ - und P+ -Pflanzen, während die P--Pflanzen in höherem Maße abgestorben waren. Wie oben erwähnt wurde, waren bei den P---Pflanzen von Raps vor allem die Wurzeln geschädigt worden, während die oberirdischen Teile nicht stärker erfroren waren als die der n- bzw. N--Pflanzen. Auf eine besondere Kälteempfindlichkeit der Wurzeln gewisser Pflanzen, z. B. der Wintererbse, sind auch Tumanow und Borodin (41) u. a. aufmerksam geworden.

Nach unseren an Reben (48) und Raps gewonnenen Erfahrungen scheint P-Mangelernährung diesen zwischen Wurzeln und oberirdischen Pflanzenorganen bestehenden Unterschied besonders deutlich hervortreten zu lassen. Was die auffallend geringe Frostresistenz der K—-Pflanzen bei den 24stündigen Gefrierversuchen betrifft, die bisher bei den Getreideversuchen nicht annähernd so scharf hervortrat, so ist zu sagen, daß bei Raps und Spinat teilweise akuter Kalimangel auftrat, der sich in der Ausbildung von Nekrosen auf den ältesten Blättern kundtat.

Die Versuche mit Spinat sind noch insofern wertvoll, als sie zeigen, daß die durch die verschiedene Mineralsalzernährung bedingte relative Frostresistenz durch den Grad der Abhärtung nicht beeinflußt wird; denn von — 8°C im ersten Versuch am 13. April konnte auf 15°C am 6. Mai herabgegangen werden, ohne daß in der relativen Widerstandsfähigkeit eine Verschiebung eintrat.

3. Versuche über die Wirkung einseitig abgestufter N- und P-Ernährung auf die Kälteresistenz von Gerste.

Die in unserer früheren Veröffentlichung und oben mitgeteilten Versuche haben einen Überblick über die Auswirkung des Überschusses bzw. des offenkundigen Mangels an einem der Hauptnährstoffe auf die Kälteresistenz verschiedener Pflanzen vermittelt, wobei jedoch der Ernährungseinfluß, insbesondere in den Überschußreihen, nicht in allen Fällen mit gleicher Deutlichkeit zutage trat.

Verschiedene Beobachtungen sprachen dafür, daß als Grund für das weniger scharfe Hervortreten der Überschußernährung in erster Linie die Wahl zu hoher Normalgaben anzusehen war. Bisher dienten als Standard Pflanzen, die bei einem mittleren, "normalen" Nährstoffgehalt des Bodens gewachsen waren und unter diesen Bedingungen eine Entwicklung erreichten, die erfahrungsgemäß für die Anforderungen der landwirtschaft-

lichen Praxis erstrebenswert ist. Für die Lebenstüchtigkeit der Pflanzen braucht dieses "normale" Mineralstoffverhältnis natürlich nicht das beste zu sein, sondern kann sich gegenüber bestimmten Beanspruchungen unter Umständen auch ungünstig auswirken. Zu dem teilweise abweichenden Verhalten der unter gleichen Ernährungsbedingungen gewachsenen Sorten ist zu sagen, daß es außer durch den verschieden großen Nährstoffvorrat in den Samen und das verschieden starke Aneignungsvermögen der Wurzeln für Mineralstoffe auch durch das für ein bestimmtes Entwicklungsalter spezifisch große Mineralstoffbedürfnis bestimmt wird. Dann muß noch berücksichtigt werden, daß die Intensität der Aufnahme und des Verbrauchs eines Nährstoffes auch von dem Angebot der übrigen Nährstoffe und den äußeren Wachstumsfaktoren in einem von Sorte zu Sorte verschiedenen Grade abhängig ist.

Um genauere Unterlagen über die Wirkungsweise und die Grenzen des Einflusses der einzelnen Hauptnährstoffe auf die Kälteresistenz zu gewinnen, sind zu den folgenden Versuchen N und P in vier Dosierungen angewendet worden, wobei gleichzeitig die Grunddüngung niedriger als bei den früheren Normalreihen gewählt wurde. Es konnte dann erwartet werden, daß sich die Wirkung des variierten Nährstoffes klarer herausstellen ließ. Pflanzen der nämlichen Anzuchten sind außer zu den Kälteresistenzbestimmungen auch zu physiologischen Untersuchungen verwendet worden, auf die später einzugehen sein wird. Als Versuchspflanze wurde Friedrichswerther Berg Wintergerste gewählt, weil im Vergleich zu den übrigen Getreidearten bei Gerste die Ernährungsunterschiede am besten und raschesten hervortraten und die Bestimmung der Kälteresistenz in bezug auf Tiefe der Temperaturen und Dauer der Einwirkung keine zu hohen Ansprüche stellte.

Das Substrat bestand aus nährstoffreiem Quarzsand und etwas nährstoffhaltigem Flußsand zu gleichen Teilen, dem 6 % Torf beigemischt war. Die Aussaat für die N-Reihen erfolgte am 26. Oktober, für die P-Reihen am 30. Oktober. Die Düngung auf  $2\frac{1}{2}$  kg Sandtorf und für je zwölf Pflanzen betrug für die N-Reihe: gleichmäßig  $K_2O$  (als Kaliumchlorid) = 0,25 g und  $P_2O_5$  (als primäres Kalziumphosphat) = 0,2 g und N (als Ammonnitrat) für  $N_1=0,7$  g,  $N_2=0,35$ ,  $N_3=0,07$ , und  $N_4=0,015$  g; für die P-Reihe:  $K_2O=0,25$  g und N=0,25 g gleichbleibend und  $P_2O_5$  für  $P_1=0,5$  g,  $P_2=0,25$  g,  $P_3=0,05$  g und  $P_4=0,01$  g.

Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in der Vegetationshalle. Der Wassergehalt des Bodens wurde auf 60 % der vollen Kapazität gehalten. Die Abhärtung fand vom 18. Januar ab bei  $+3^{\circ}$  C  $\pm 1^{\circ}$  C statt. Die Gefrierversuche wurden in der üblichen Weise durchgeführt, wobei die Pflanzen aber vor der Tiefkühlung jeweils auf 48 Stunden bei  $-3^{\circ}$  C bis  $-5^{\circ}$  C im Dunkeln gehalten und dann erst in den Tiefkühlschrank gebracht wurden.

Die Tabelle 4 enthält das Ergebnis der Gefrierversuche mit den Versuchsdaten. In Tabelle 5 sind die Trockengewichte der Pflanzen in Prozenten des Frischgewichtes zusammengestellt. Der Trockengehalt wurde von je zwölf Pflanzen bestimmt und zwar nach dem Abhärten am Licht bei  $+3^{\circ}$  C  $\pm 1^{\circ}$  C, nach neuntägigem Stehen bei  $-2^{\circ}$  C bis  $-5^{\circ}$  C und nach längerem Stehen bei  $-6^{\circ}$  C im Dunkeln. Die Zahlen unter d vom 3. März sind

aber nicht mehr ganz einwandfrei, weil hier sicher schon erfrorene Teile, die nicht ohne weiteres erkannt werden konnten, zur Bestimmung mit verwendet wurden.

Tabelle 4.

Frostresistenz von mit wechselnden N- und P-Gaben ernährten Gerstenpflanzen.

Abgestorbene Pflanzenteile in Prozenten der oberirdischen Pflanzenmasse.

Temperatur- und Einwirkungsdauer		1. N	-Reihe.	
	N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>3</sub>	N <sub>4</sub>
— 12 ° C; 24 Stunden; 12. Februar 1934 — 13 ° C; 24 Stunden; 19. Februar 1934 — 12 ° C; 24 Stunden; 22. Februar 1934 — 6 ° C; 15. bis 28. Februar 1934 — 6 ° C; 15. Februar bis 3. März 1934 .	 65,91 89,23 68,82 82,05 87,53	53,83 74,42 50,4 60,76 60,14	31,11 50,24 28,24 54,28 58,32	69,43 90,77 72,65 50,62 51,20
	2. P-Reihe			
	$P_1$	Pg	P <sub>3</sub>	$P_4$
- 12 ° C; 24 Stunden; 12. Februar 1934 13 ° C; 24 Stunden; 19. Februar 1934 12 ° C; 24 Stunden; 22. Februar 1934 6 ° C; 15. bis 28. Februar 1934	 32,83 95,92 \$3,33 74,51 78,94	30,27 94,0 35,0 72,0 70,47	28,43 85,98 32,47 68,43 71,25	57,32 100 69,32 60,47 59,28

Tabelle 5.
Trockengehalt von mit wechselnden N- und P-Gaben ernährten Gerstenpflanzen.

(Domesting)		1. N-	Reihe	
Temperatur	N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	Na	N <sub>4</sub>
a) bei + 3° (' bis + 4° (' am 2. Februar 1934 b) bei - 2° (' bis - 5° (' vom 5. bis 14. Feb-	12,77	12,34	12,32	12,98
ruar 1934	14,99	14,79	14,90	15,52
ruar 1934	17,80	18,11	17,53	18,35
) wie c), bei — 6° C bis 3. März 1934	20,49	19,88	19,25	20,36
		2. P-	Reihe	
	P <sub>1</sub>	P.	Pa	P4
) bei + 3° (' bis + 4° (' am 13. Februar 1934 ) bei - 2° (' bis - 5° (' vom 5. bis 14. Feb-	13,53	14,05	14,59	14,78
ruar 1934	17,55	17,81	16,82	16,94
wie b), bei — 6° (' bis 21. Februar 1934 .	18,37	19,21	18,75	20,46
) wie c), bei - 6° (' bis 3. März 1934	28,65	28,16	25,58	22,42

Ergebnis: Die Versuche bestätigen unsere früheren Resultate insofern, als sich die bei sehr geringem N- und P-Gehalt des Bodens gewachsenen Pflanzen bei kurz dauernder Einwirkung relativ tiefer Temperaturen als am wenigsten resistent erwiesen, während sie bei länger dauernder Einwirkung weniger tiefer Temperaturen die geringste Schädigung erlitten. Eine Erweiterung erfahren die früheren Ergebnisse dahin, daß eine Vergrößerung der P-Gaben von 0,05 g auf 0,5 g unter beiden Bedingungen eine sehr schwache resistenzvermindernde Wirkung erkennen ließ, während eine Steigerung der N-Gaben von 0,07 auf 0,35

und 0,7 g eine deutliche Verminderung der Kältewiderstandsfähigkeit zur Folge hatte. Die für die Kälteresistenz optimalen N- und P-Mengen waren demnach bedeutend geringer als die in unseren früheren Versuchen gebrauchten "Normalgaben". Auf die auch dieses Mal klar hervortretende Tatsache, daß bei den geringsten N- und P-Gaben die Kälteempfindlichkeit der Pflanzen bei verhältnismäßig tiefen Temperaturen und kurzer Einwirkungszeit relativ größer war als bei länger dauernder Kühlung auf weniger tiefe Temperaturen, wird später noch einzugehen sein.

Wie die in Tabelle 5 zusammengestellten Wassergehaltsbestimmungen zeigen, läßt sich aus ihnen keine Beziehung zur gefundenen Frostresistenz ableiten. Sie liefern aber einen Beweis dafür, daß der während der Dauerkühlung eingetretene Wasserverlust nicht als Ursache des Absterbens unter diesen Bedingungen angesehen werden kann; denn in besonderen Versuchen stellte sich das letale Wasserdefizit für abgeschnittene zweite und dritte Blätter normal ernährter Pflanzen mit der Erreichung eines Trockensubstanzgehaltes von 49 bis  $56\,^{\circ}/_{\circ}$  des Frischgewichtes ein. Letal wurde der Wasserverlust bezeichnet, bei dem die Blätter nach Aufbewahren bei  $+2\,^{\circ}\mathrm{C}$  in trockener Luft und am Licht zur Hälfte abgestorben waren. Der Schädigungsgrad wurde nach der Erholungsfähigkeit der serienweise in feuchte Kammern übertragenen, gewelkten Blätter beurteilt.

4. Versuche über die Wirkung verschieden großer Kaligaben auf die Frostresistenz von Gerstenund Weizenpflanzen.

In den früheren Versuchen mit Getreide ließen verschieden hohe Kaligaben bei kurzer Gefrierdauer keinen Einfluß auf die Frostresistenz erkennen; dagegen machte sich bei länger dauernder Kältewirkung die unterschiedliche K-Düngung deutlich bemerkbar. In den Versuchen mit Raps und Spinat lagen die Verhältnisse insofern anders, als unter beiden Versuchsbedingungen die Kälteresistenz durch gute K-Versorgung erhöht, durch Mangel an diesem Nährstoff erniedrigt wurde.

Die mangelnde Übereinstimmung des Verhaltens der Getreidesorten einerseits, von Raps und Spinat andererseits bei abgestufter Kaliernährung und kurz dauernder Kältewirkung ließ sich, abgesehen von dem im vorhergehenden Abschnitt über Differenzdüngung im allgemeinen Gesagten, unschwer auf das zur Zeit der Kühlung fortgeschrittenere Entwicklungsstadium der letzteren Pflanzen und den damit verbundenen höheren Kaliverbrauch zurückführen. Es konnte daher erwartet werden, daß bei Verwendung eines noch kaliärmeren Substrates als es der graue Flußsand darstellt, auch die Getreidearten in demselben Sinne reagieren würden wie Raps und Spinat.

Eine eingehendere Untersuchung der K-Wirkung auf die Frostresistenz schien außer wegen seiner Bedeutung für praktische Fragen besonders deshalb von Interesse, weil Kalium nicht unmittelbar einen Baustein des Protoplasmas darstellt, sondern nach neueren Ansichten (Lit. bei Höber 14, Schmalfuß 37, Lundegardh 21) auf Grund seiner physikalisch-chemischen Eigenschaften am spezifischen kolloidchemischen Aufbau des Protoplasmas beteiligt ist. Die besondere Wirkung des Kaliums könnte dabei darin gesehen werden, daß es als Antagonist des Kalziums den ('a-Spiegel des Protoplasmas erniedrigt, was besonders bei Entwässerungsvorgängen von Wichtigkeit sein kann. Das ('a-lon weist bekanntlich eine hohe Hydratationstendenz auf und tritt mit den mehr oder weniger hydrophilen Plasmakolloiden um das freie Wasser in Wettbewerb. Bei starker Verringerung des verfügbaren freien Wassers können dadurch lebenswichtige Plasmakolloide in irreversibler Weise entquollen werden. Außerdem ist das zweiwertige Ca-lon stark kolloidaktiv und kann unter denselben Umständen elektrische Ladungsänderungen der Plasmakolloide herbeiführen, deren Folge die Koagulierung dieser Stoffe ist.

Andererseits bestimmt Kalium in hohem Maße den Quellungszustand des Protoplasmas. Das ist aus unseren früheren Versuchen ersichtlich, in denen der Wassergehalt und der osmotische Wert des Zellsaftes der K+-Pflanzen stets größer war als der der K--Pflanzen und wird durch die Ergebnisse anderer Forscher bestätigt. (Hansteen-Cranner 12, Kisser 18, Schmalfuß 37 u. a.)

Für die Anlage der im folgenden mitgeteilten Versuche war noch die Erwägung maßgebend, daß sich eine durch unterschiedliche Kaliernährung hervorgerufene Veränderung des Quellungszustandes des Plasmas voraussichtlich durch Anzucht der Pflanzen bei hoher bzw. niederer Bodenfeuchtigkeit vergrößern ließe. Ferner schien die Deutung der Wirkungsweise des Kaliums erleichtert, wenn es gelänge, das Kalisalz durch das ihm chemisch nahestehende Natriumsalz zu ersetzen oder durch eine gesteigerte Ca-Zufuhr seine Wirkung stärker hervortreten zu lassen.

a) Versuche mit Gerste, die bei abgestufter K-Düngung und gleichzeitig bei verschiedener Bodenfeuchtigkeit gezogen wurde.

Diese Versuchsserie war so angelegt, daß das Kalisalz bei gleichbleibenden N- und P-Gaben in vier verschiedenen Konzentrationen geboten und daß außerdem in einer fünften und sechsten Reihe bei Kalimangel einmal die N-Gabe, dann die P-Gabe verdoppelt wurde. Bei dem einen Teil der sechs verschiedenen Ernährungsreihen wurde der Wassergehalt des Bodens auf 30 %, bei dem anderen auf 90 % der vollen Wasserkapazität gehalten. Das Düngungsschema für 2,5 kg Sand-Torf und zwölf Pflanzen war folgendes:

 $K_1: K_2O = 0.5$  g,  $P_2O_5 = 0.20$  g, N = 0.25 g  $K_2: K_3O = 0.25$  g,  $P_2O_5 = 0.20$  g, N = 0.25 g

Zu den Versuchen wurde wieder Friedrichswerther Berg Wintergerste benützt. Die Aussaat erfolgte am 5. Oktober 1933 in die kleinen Töpfe bzw. am 10. Oktober in Vegetationsgefäße, die in bezug auf Düngung und Wasserversorgung ganz analog behandelt worden waren und deren reichlicheres Pflanzenmaterial zu den physiologischen Bestimmungen benützt wurde. Während der Anzucht standen die Pflanzen in der Vegetationshalle. Die Abhärtung wurde in den Kältezellen bei  $+2^{\circ}$  C  $\pm 1^{\circ}$  C vom 28. Oktober ab vorgenommen. Die Abkühlung zu den Gefrierversuchen erfolgte allmählich, indem die Pflanzen zuerst während 24 Stunden bei -3 bis  $-5^{\circ}$  C gehalten und dann erst den gewählten tiefen Temperaturen ausgesetzt wurden. Das Ergebnis der Frostresistenzbestimmungen ist in Tabelle 6 zusammengestellt. Die Trockensubstanzgehalte und die Werte der Gefrierpunktserniedrigung des Preßaftes sind in Tabelle 7 enthalten.

Ergebnis: Der Besprechung der Resultate sei vorausgeschickt, daß durch die Verwendung nicht völlig nährstoffreien Sandgemisches auch bei den Ka-Reihen kein akuter Kalimangel vorlag und keine äußerlich sichtbaren Krankheitszeichen z. B. abgestorbene Blattspitzen u. a. bemerkt wurden; ferner, daß nach dem Ausfall der weiter oben beschriebenen Versuche die Grunddüngung mit P und N als relativ hoch anzusehen war. Der Einfluß steigender K-Gaben hat sich in allen vier Abstufungen und unter beiden Gefrierbedingungen durch eine Erhöhung der Kälteresistenz bemerkbar gemacht. Die Unterschiede traten in den Anzuchten bei 30% Bodenfeuchtigkeit stärker hervor als in denen bei 90 %. Der Schädigungsgrad erreichte in den K.-Reihen bei hoher und niedriger Bodenfeuchtigkeit etwa die gleiche Höhe, während die K1- und K2-Reihen bei 90 % Bodenfeuchtigkeit deutlich stärker erfroren waren als die gleichen Reihen bei 30 % Wassergehalt des Bodens, ohne jedoch den Schädigungsgrad der bei geringer Bodenfeuchtigkeit gezogenen K3- und K4-Reihen zu erreichen. Auffallend ist die Tatsache, daß bei den 24 stündigen Kühlversuchen der Resistenzunterschied zwischen den K<sub>1</sub>- und K<sub>2</sub>-Reihen durchschnittlich nur gering war und in Übereinstimmung mit den früher gemachten Erfahrungen erst bei der Dauerkühlung deutlich hervortrat. Was die Wirkung der in den K5- und K6-Reihen verdoppelten N- bzw. P-Gaben betrifft, so bestätigen sie das oben gefundene Resultat, indem auch bei Kalimangelernährung die Steigerung der N-Gaben eine zwar geringe, aber immerhin deutliche, und die Steigerung der P-Gaben kaum eine resistenzvermindernde Wirkung erkennen ließ.

Die am 15. November ausgeführten und in Tabelle 7 zusammengestellten Bestimmungen des Wasser- bzw. Trockensubstanzgehaltes und der Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes geben Aufschluß über die Hydratur (43) der Pflanzen, die herrschte, als sie zum Gefrieren gebracht wurden. Würde nun das Absterben der Pflanzen beim Gefrieren nur davon abhängen, daß das Protoplasma nach Maßgabe des osmotischen

Frostresistenz von Gerste, bei wechselnden Kaligaben und bei 30 und 90% der vollen Wasserkapazität des Bodens gezogen. Erfrorene Teile in Prozenten der oberirdischen Pflanzenmasse. Tabelle 6.

	او	13,24 15,25 53,18 58,19 52,24	42.19 51,11 31,88
	×	4 4 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	42 61 61
<b>+</b> -	Ks	54.27 59.28 62.95 71,43 73,10	47,12 63,18 64,12
00 % Wassergehal	Ķ.	48,39 54,79 60.66 59,26 60,78	49,10 69.87 70,83
90 % Wa	K <sub>3</sub>	34,25 38,42 40,00 43,67 46,15	26.93 61.54 59,48
<b>J.</b>	Ķ,	18.97 28.81 26,42 35,21 31,19	21.54 40.18 47.55
	K <sub>1</sub>	13,46 21,87 27,59 28,98 25,12	0 26.12 34.16
	Ke	42.54 54.12 49.15 53.40 58.18	35.21 45.11 59.68
<b>+</b> -	K <sub>5</sub>	64,00 57,43 62.96 65.24 67,17	45.00 47.52 62.70
Wassergehalt	K.	46.88 59.26 53.17 62.0 57.14	31.76 49,12 60,59
30% Wa	K <sub>3</sub>	12.90 38.09 33.82 43.24 39,39	19,35 38.30 44,44
	K,	8.89 14.45 17.22 19.23	17,27 32,56 33.87
	Κ <sub>1</sub>	0 11,36 5.26 16.28 15,56	0 15.91 19.12
Temperatur und Dauer	der Kühlung	— 9° C; 24 Stunden: 8. November —10° " 24 " 9. " — —10° " 24 " 11 " " — —11° " 24 " 13. " — —11° " 24 " 14. "	— 6°C; vom 5. bis 18. Dezember.  — 6° " " 5. " 22. " .  — 6° " " 5. " 28. " .

Tabelle 7. Trockengehalt und Gefrierpunktserniedrigung 17gl. Tabelle 6).

-	30% Wassergehalt	ergehalt			***	90 % Wassergehalt	ıssergeha	lt	
	K <sub>1</sub> K <sub>2</sub> K <sub>3</sub> K <sub>4</sub> K <sub>5</sub> K <sub>6</sub> K <sub>1</sub> K <sub>2</sub> K <sub>3</sub> K <sub>1</sub> K <sub>5</sub> K <sub>6</sub>	K <sub>4</sub> K <sub>5</sub>	Ke	$\mathbf{K}_1$	K <sub>2</sub>	K <sub>3</sub>	K,	Кs	Кя
Vegetationsgefäße	Vegetationsgefäße: Anzucht Vegetationshalle, 14 Tage bei +3 bis 4° C. dann 24 Stunden bei -2° C.	14 Tage bei -	-3 bis 4°	C. dann \$	34 Stunde	n bei —	2 " ('.		
	Bestimmung am 15. November vormittags.	n 15. Novembe	r vormittag	ž.					
	1 12.93 12.98 13.41 1	14.73 17.00	16,70	11.32	11.41	13,20	13.69	13,61	12,54
Gefrierpunktserniedrigung	1,53   1,38   1,32   1,30   1,42   1,46   1,28   1,22   1,18   1,24   1,10	1,30 1.42	1.46	1.28	1.22	1,22	1.18	1,24	1,10
Vegetationsgefäße: Anzuch	Vegetationsgefäße: Anzucht wie oben, am 23. November in 0° C, am 24. November - 2° C, am 27. November in - 4° C.	r in 0° C. am	24. Novem	ber - 2°	C. am 2	7. Novem	ber in –	-40 C.	
0	am 28. November in — 5 ° (' bis 4. Dezember 1933.	1 - 5° (' bis	4. Dezembei	1933.					
Trockengehalt	16,54   16,76   18,02   20,26   19,87   18,94   14,86   15,82   16,05   16,82   18,14   16,25	20.26 19,87	18.94	14.86	15.82	16.05	16.82	18,14	16,25

126 A. F. Wilhelm:

Wertes bis zu einem bestimmten, schädlich wirkenden Grade entwässert wird, dann wäre zu fordern, daß eine klare Beziehung zwischen Frostresistenz und osmotischem Wert erkennbar würde. Eine Parallele besteht nun insofern, als mit der Steigerung der Kaligaben sowohl der osmotische Wert als auch die Frostresistenz zunahm, ferner als bei 30 % Bodenfeuchtigkeit die K1- und K2-Werte ebenso wie die Frostresistenz größer waren als bei 90 % Bodenfeuchtigkeit. Außerdem entsprechen die osmotischen Werte der K1- und K2-Pflanzen, unabhängig von der Bodenfeuchtigkeit und dem absoluten K-Gehalt der vier Düngungsreihen, annähernd der Frostresistenz dieser Pflanzen bei 24 stündiger Kühlung. Vergleicht man dagegen die entsprechenden Werte der K4-, K5- und K6-Reihen bei 30 % mit denen bei 90 % Bodenfeuchtigkeit, dann ergeben sich zwar deutliche Unterschiede des osmotischen Wertes, zur Frostresistenz lassen sie aber jede Beziehung vermissen. Dasselbe ist der Fall. wenn man z. B. die K<sub>1</sub>- und K<sub>2</sub>-Werte (1,28°C und 1,22°C) der bei 90°/<sub>0</sub> Bodenfeuchtigkeit gezogenen Pflanzen mit denen der K3- und K4-Pflanzen (1,32°C und 1,30°C) bei 30°/0 Bodenfeuchtigkeit und der jeweiligen Frostresistenz in Beziehung bringen will.

Was den Zuckergehalt der bei abgestuften K-Gaben gewachsenen Pflanzen betrifft, so ist er nach unseren früheren Feststellungen bei den K-Mangel-Pflanzen unter den gesetzten Bedingungen größer als bei den mit Kalium gut versorgten Pflanzen, so daß in bezug auf die Schutzwirkung der Zucker auf Seiten der letzteren Pflanzen zum mindesten mit keiner Überlegenheit gegenüber den K-Mangel-Pflanzen zu rechnen ist. Die Wasserstoffionenkonzentration der Preßsäfte ließ seinerzeit eine deutliche Abhängigkeit von der K-Ernährung nicht erkennen, so daß in dieser Hinsicht keine größeren Unterschiede zu erwarten sind.

Aus dem Trockensubstanzgehalt der Pflanzen, der nach zehntägiger Kühlung bestimmt wurde, läßt sich entnehmen, daß der absolute Wasserverlust, den die Pflanzen während der Dauerkühlung erlitten, nicht die Ursache des Absterbens unter diesen Bedingungen war, zumal gerade die Pflanzen mit höherem Wassergehalt in stärkerem Grade erfroren waren als die mit niedrigerem.

Die Versuche lassen demnach die Annahme zu, daß Kalium einmal auf dem Wege einer Erhöhung des osmotischen Wertes für die Frostresistenz förderlich ist, daß es aber zweitens auch durch eine spezifische Einwirkung auf die als gleich gedachten Plasmakolloide die Frostresistenz erhöht. Diese spezifische Einwirkung trat am deutlichsten hervor, wenn sich die Plasmakolloide schon von vornherein in einem gewissen, wenn auch geringen Entquellungszustande befanden oder wenn sie längere Zeit einer Entquellung unterworfen wurden; denn sie war bei den Pflanzen mit niederem Wassergehalt (Anzucht bei 30% Bodenfeuchtigkeit) klarer zu erkennen als bei denen mit höherem Wassergehalt; sie war ferner stets

bei länger dauernder Frosteinwirkung deutlicher als bei 24stündigem Gefrieren. Es ist daher wahrscheinlich, daß Kalium durch Ausbildung eines gegenüber Entquellungsvorgängen relativ widerstandsfähigen Kolloidzustandes resistenzerhöhend wirkt. Der Zeitfaktor spielt bei Entquellungsvorgängen eine große Rolle, was daraus hervorgeht, daß manche zunächst reversible Dispersitätsänderungen, Entquellungen oder Flockungen mit der Zeit irreversibel werden (Höber a. a. O., Kap. 11).

## b) Versuche, in denen Kalium durch äquivalente Mengen Natrium und Kalzium ersetzt wurde.

In den nachstehenden Versuchen ist den Pflanzen statt KCl in äquivalenten Mengen CaCl, und NaCl zur Aufnahme dargeboten worden in der Absicht, auf diesem Wege eine Änderung der natürlichen Elektrolytverhältnisse innerhalb der Zelle und besonders innerhalb des plasmatischen Kolloidsystems zu erzielen. Von vornherein waren wir uns bei der gewählten Art der Versuchsausführung der Schwierigkeiten der zu lösenden Aufgabe bewußt; denn erstens enthält das Samenkorn einen immerhin nicht geringen K-Vorrat und zweitens wird die Ionenaufnahme von physiologischen Gesetzen der Wurzelepidermis geleitet, nach denen K bevorzugt aufgenommen wird, während bekanntlich Ca und auch Na in viel geringerem Maße zur Aufnahme gelangen (Lundegårdh, 21). Aber abgesehen davon, daß wir stets bestrebt waren, möglichst natürliche Bedingungen einzuhalten, mußten Versuche mit völlig kalifreiem Substrat vorerst zurückgestellt werden. Wenn daher das erstrebte Ziel auch nur zum Teil erreicht wurde, so sind die Versuche doch schon deshalb wertvoll, weil als Versuchspflanze der uns am meisten interessierende Weizen verwendet wurde und unsere früheren Versuche mit dieser Pflanze bei kurzer Gefrierdauer kein klares Bild über die Wirkung abgestufter K-Mengen auf die Frostresistenz vermitteln konnten. Das Düngungsschema bei gleichbleibender Grunddüngung mit 0,2 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> und 0,25 g N war auf 2.5 kg Sandtorf und für je 12 Pflanzen folgendes:

	K,0	Na <sub>2</sub> O	CaO
	g	g	g
1. 2.	0,5 0,05	= 11	
3.	0,05 	- "	
4.	0,05	0,45 0,5	-
4. 5. 6.		0,5	****
6.	0,5	_	0,5
7.	0,05		0,5
8.	<u> </u>		0,5
9.	0,05	0,45	0,5
10.		0,45 0,5	0,5 0,5 0,5 0,5 0,5

Die Aussaat von Criewener 104 Winterweizen erfolgte am 8. bzw. 13. November 1933. Zur Anzucht standen die Pflanzen in der ungeheizten Vegetationshalle, zur Abhärtung In

In

Tabelle 8. Frostrosistenz der bei verschiedenem K., Na. und Ca.Gehalt des Bodens gewachsenen Weizenpflanzen. Abgestorbene Pflanzenteile in Prozenten der oberirdischen Pflanzenmasse.

Donor and Tomorator do Vallance		غمز			Ernäl	Ernährung				
Бяпет ппи тетрегачи пет типтия	1	2	သ	4	OT.	6	7	8	9	10
1934. 24 Stund	78	93,75	100	96,72	100	82,87	90,81	100	96,23	100
1934, 24 Stund	12	18,07	36,17	25,00	89,22	15,14	23,12	44,64	14,89	32,12
1934. 24 Stund	36.11	49.27	91.07	62.53	87,23	42,80	52,86	92,86	60,86	92,86
1934 24 Stund	27.65	35.48	58.97	45.03	60,18	28,12	40,27	66,18	50,58	51,16
6. März 1984, 24 Stund., — 12° C	15,30	22,39	47,62	24,00	29,54	18,07	23,08	52,31	26,25	51,46
ar bis 12. März.	14.55	25.00	46,15	25,42	49,12	11,59	26,47	41,12	19,29	37,10
bis 28. März.	28.18	35,12	61,43	40,82	55,70	32,09	39,28	70,22	30,28	75,00
3. März bis 4. April, - 6°C	68,52	80,90	98,63	81,11	97,47	65,21	87,50	95,05	83,61	96,83

Trockengehalt und Gefrierpunktserniedrigung der bei verschiedenem K., Na. und Ca-Gehalt des Bodens gewachsenen Pflanzen. Tabelle 9.

		0								
					Ernä	Ernährung				
	1	20	3	4	Οī	6	7	8	9	10
			1. Tr	1. Trockengehalt						
+ 6 bis 8 C, 22 Februar 1934.	13,15	14 54	15,67	14,37	15,59	12,98	13,87	15,15	14,58	15,48
24. Februar 1934	15,50	16,80	17,31	16,52	17,57	15,99	16,67	16,96	17,16	17,56
dann — 2 bis 3°C, hell, bis 3. März	21,33	23,62	24,67	22,67	24,36	21,09	23,28	25,00	22,86	28,74
		2. Gefrie	rpunktserni	2. Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes	les Preßsaf	tes			,	
+6 bis 8°C, 22. Februar 1934	0,98	0,88	0,87	0,85	0,84	0,90	0,82	0,75	0,78	0,79
vom 14. bis 24. Febr. bei + 2 bis 3°C, lann — 2 bis 3°C, hell, bis 3. März	1,90	1,54	1,34	1,58	1,58	1,78	1,55	1,42	1,58	1,58

vom 10. Januar 1984 ab bei  $+2^{\circ}$  C  $\pm$  1° C. Die Dauerkühlversuche konnten wegen Platzmangels nicht gleichzeitig, sondern mußten nacheinander durchgeführt werden. Die zu den Bestimmungen des Wassergehaltes und der Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes benutzten Pflanzen sind unter den gleichen Bedingungen in Vegetationsgefäßen herangezogen worden. Das Ergebnis der letzteren Versuche ist mit den notwendigen Angaben über Zeit und Temperatur in Tabelle 9, das der Kühlversuche in Tabelle 8 zusammengestellt.

Ergebnis: In den Gefrierversuchen trat trotz der nach unseren früheren Erfahrungen zu hoch gewählten Grunddüngung mit N und P die dominierende Rolle der K-Ernährung eindeutig hervor: Sowohl bei länger dauerndem Gefrieren als auch bei kurz dauernder Kühlung nahm die Widerstandsfähigkeit mit der Steigerung der Kaligaben zu. Die Bestimmungen des Wassergehaltes der ganzen Pflanzen und der Zellsaftkonzentration stimmen mit den früheren Befunden dahin überein, daß mit der Erhöhung der K-Gaben sowohl der Wassergehalt als auch der osmotische Wert anstieg. Die Zugabe von NaCl und CaCl, zum Boden blieb unter den gewählten Bedingungen ohne erkennbaren Einfluß auf die Frostresistenz. Was den osmotischen Wert betrifft, so berechtigen die am 3. März gemessenen Werte der Gefrierpunktserniedrigung zur Aussage, daß er durch NaCl etwas erhöht wurde; denn dem Wert von 1,58" C der Reihen 4, 5, 9 und 10 stehen die der Reihen 2, 3, 7 und 8 mit 1,54, 1,34, 1,55 und 1,42° C gegenüber. Der Wassergehalt der Pflanzen zeigte eine deutliche Abhängigkeit nur von der K-Düngung, während er von den erhöhten CaCla-Gaben nicht beeinflußt wurde. Wahrscheinlich war der Ca-Gehalt des Sandgemisches schon von vornherein ziemlich hoch, so daß die nachträgliche CaCl<sub>2</sub>-Gabe nicht mehr zur Geltung kam.

Wenn auch über den inneren Gehalt unserer Pflanzen an K, Na und Ca ohne besondere Untersuchungen nichts Bestimmtes gesagt werden kann und den Pflanzen der K-Mangelreihen eine zur Erfüllung der normalen Lebensfunktionen ausreichende Menge Kalium zur Verfügung stand, dann durfte doch in den "kalifreien" Reihen bei einem Überangebot des Natriumund Kalziumsalzes mit einer erhöhten Aufnahme der letzteren gerechnet werden. Aus der Tatsache, daß durch die NaCl-Düngung der osmotische Wert eine, wenn auch geringe Erhöhung erfuhr, die Frostresistenz aber nicht merkbar beeinflußt wurde, kann indirekt in bezug auf die Wirkungsweise des Kaliums der Schluß gezogen werden, daß Kalium weniger durch eine Erhöhung des osmotischen Wertes für die Frostresistenz förderlich ist, sondern hauptsächlich durch eine spezifische Beeinflussung der Plasmakolloide. Unter den gewählten Bedingungen blieb auch die Steigerung der Ca-Gaben ohne erkennbaren Einfluß. Es ist aber wahrscheinlich, daß unter anderen Versuchsbedingungen eine Ca-Wirkung in dem weiter oben angegebenen Sinne wohl zutage treten kann.

Die in Tabelle 9 aufgeführten Werte für den Wassergehalt der Pflanzen und die Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes vom 22. Februar einer-

seits und vom 3. März andererseits bringen, überschlagsmäßig berechnet und einfachste physikalische Bedingungen sowie keine größere Substanzzunahme vorausgesetzt, zum Ausdruck, daß der Anstieg des osmotischen Wertes zum größten Teil auf die Reduzierung des Wassergehaltes und nur zu einem geringen Teil auf die Neubildung osmotisch wirksamer Substanzen zurückzuführen war; denn im Durchschnitt hatte der Trockensubstanzgehalt von  $14.5\,^{\circ}/_{\circ}$  auf  $23.3\,^{\circ}/_{\circ}$ , das heißt um etwa  $62\,^{\circ}/_{\circ}$  und die Gefrierpunktserniedrigung von durchschnittlich  $0.86\,^{\circ}$  C auf  $1.58\,^{\circ}$  C, das heißt etwa  $84\,^{\circ}/_{\circ}$  zugenommen.

5. Versuche über die Widerstandsfähigkeit von Getreidesorten gegenüber länger und kürzer dauernder Kältewirkung unter Berücksichtigung

ihres xerophytischen oder hygrophytischen Charakters.

Diese Versuche waren veranlaßt durch die Tatsache, daß die Resistenzreihe verschieden ernährter Pflanzen bei länger dauernder Einwirkung weniger tiefer Temperaturen nicht die gleiche war wie in den 24 Stunden dauernden Gefrierversuchen. Zur Erklärung dieses auffallenden Befundes mußte angenommen werden, daß entweder bestimmte Plasmakolloide eine kurz dauernde Entwässerung auf einen höheren Grad besser bzw. weniger gut vertragen würden als eine länger dauernde auf einen geringeren Grad oder daß während der Dauerkühlung Stoffwechselprozesse mit verschiedener Geschwindigkeit ablaufen und dadurch die ursprünglichen Verhältnisse in ungleichem Grad verschieben würden. Es schien daher nicht unwahrscheinlich, daß auch bei Sorten ähnliche Verhältnisse vorkommen könnten. Bei einer Bestätigung der Vermutung, daß unter der Bedingung der Dauerkühlung bestimmte Sorten eine andere relative Resistenz aufweisen würden als unter der des kurz dauernden Gefrierens, hätte auch die bisher geübte Methode der künstlichen Frostresistenzbestimmung eine Erweiterung erfahren müssen, da unseres Wissens bis jetzt stets nur relativ kurze Zeiten und tiefe Temperaturen zur Anwendung kamen.

Sorten xerophytischen und hygrophytischen Charakters sind deshalb in die Untersuchungen mit einbezogen worden, weil Dürre- und Frostresistenz auf der gleichen Plasmaeigenschaft, nämlich ein Austrocknen mehr oder weniger gut zu ertragen, beruhen sollen (Maximow, 23). Allerdings wiesen schon Pfeffer (33) und Irmscher (17) darauf hin, daß trockenheitsresistente Pflanzen nicht auch frostresistent zu sein brauchen. Würde erstere Ansicht zutreffend sein, dann müßten zum mindesten unter der Bedingung des länger dauernden Gefrierens xerophytische Sorten frostwiderstandsfähiger sein als hygrophytische.

Die Ergebnisse der unter den angegebenen Gesichtspunkten durchgeführten Versuche sind in den Tabellen 10, 11 und 12 zusammengestellt. Zu den ersten Versuchen (Tabelle 10) sind Weizensorten gut bekannter

Frostresistenz verwendet worden. Ihre Reihenfolge lautet nach ansteigender Resistenz geordnet: Strubes Dickkopf, Strubes General von Stocken, Criewener 104, Svalöfs Svea, Sammet und Minhardi (Gaßner und Rabien, 10). Die Aussaat dieser Sorten erfolgte am 18. Oktober 1932. die Anzucht in der Vegetationshalle. Die Abhärtung bei  $+2^{\circ}$  ( $\pm 1^{\circ}$  ('fand vom 17. November ab statt.

Über die Frostresistenz der vier Gerstensorten (Tabelle 11) lagen seinerzeit¹) keine experimentell gewonnenen Daten vor. Erfahrungsgemäß gilt Friedrichswerther Berg als ziemlich resistent, während Mansholts Groninger und Eckendorfer Mammuth zu den weicheren Sorten zählen. Die Gerstensorten wurden am 5. Dezember 1932 ausgesät. Während der Anzucht standen sie in der Vegetationshalle, zur Abhärtung vom 12. Januar 1933 ab bei  $+3\,^{\circ}$  C  $\pm 1\,^{\circ}$  C.

Von den mit Getreidesorten xerophytischen bzw. hygrophytischen Charakters angestellten Versuchen sind nur die mit Weizen aufgeführt (Tabelle 12). Buchers begrannter Landweizen und Zapfs Landweizen weisen xerophytische, Weihenstephaner Tassilo und Weihenstephaner Diva hygrophytische Merkmale auf. Ihre Aussaat erfolgte am 14. November 1932, die Anzucht in der Vegetationshalle. Abgehärtet wurden sie bei  $+2^{\circ}$  C  $\pm 1^{\circ}$  C vom 10. Dezember ab.

Das Datum, die Dauer und die Temperaturen der einzelnen Versuche sind aus den Tabellen ersichtlich. Versuche mit 14 Hafersorten teils xerophytischen teils hygrophytischen Charakters ergaben mit wenigen Aus-

Tabelle 10.

Kälteresistenz von Weizensorten
bei 24 stündigem und bei länger dauerndem Gefrieren.
Tote Teile in Prozenten der oberirdischen Pflanzenmasse.

			Sc	orten		_
	Strubes Dickkopf	Strubes General von Stocken	Criewener 104	Svalöfs Svea	Sammet	Minhardi
- 10° C; 10, Dezember .	12	7	0	0	0	0
11° (); 11. Dezember .	76,99	28,48	19,43	Ö	Ò	ő
- 12" (): 13. Dezember .	79,17	46,24	35,23	Ö	0	0
- 13" (; 15. Dezember .	96,60	84,91	72,36	43,93	5	0
- 7º C; vom 9. bis		•				:
19. Dezember	33,82	0	0	. 0	0	0
— 7º C; vom 9. bis						
27. Dezember .	79,69	53,97	36,11	15,65	14,16	9,86
- 7° C; vom 9. Dezember			40.01	05.50	00.45	1 170
bis 4. Januar	95,83	56,6	42,31	85,59	20,45	17,0
- 7° C; vom 9. Dezember bis 8. Januar	100	78,33	50,80	48,34	25,86	19,85

<sup>1)</sup> In einer erst vor kurzem veröffentlichten Arbeit hat Constantinescu (5) die Frostresistenz von Gerstensorten bestimmt. Seine Ergebnisse decken sich mit den unseren.

Tabelle 11.

Kälteresistenz von Wintergerstensorten
bei 24 stündigem und bei länger dauerndem Gefrieren.
Tote Teile in Prozenten der oberirdischen Pflanzenmasse.

		So	rte	
	Friedrichs- werther Berg	Werthers Ettersberger	Eckendorfer Mammuth	Mansholts Groninger
— 10 ° C; 8. Februar	20,4	34,24	54,37	40,21
12 ° C; 10. Februar	55,48	66,48	83,85	82,45
- 12 ° C; 11. Februar	60,23	69,57	92,54	80,42
— 11° C; 13. Februar	31,47	64,83	76,54	78,54
– 7º C; vom 8. bis 18. Februar	o <sup>′</sup>	10,84	22,58	26,66
- 7 ° C; vom 8. bis 25. Februar	22,50	24,62	25,71	28,24
- 7° C; vom 8 Februar bis		ŕ	, i	
1. März	36,11	48,72	82,09	76,47
- 7° C; vom 8. Februar bis				
6. März	58.21	61.08	92.79	83.84

Tabelle 12.

Frostresistenz von xerophytischen und hygrophytischen Weizensorten bei 24 stündigem und bei länger dauerndem Gefrieren.

Tote Teile in Prozenten der oberirdischen Pflanzenmasse.

	Sorte			
	Buchers begrannter Landweizen	Zapfs Landweizen	Weihen- stephaner Tassilo	Weihen- stephaner Diva
- 9° C; 7. Januar	20,83 31,25 40,91 90,47 0	0 26,08 25,08 75,61	22,13 50,0 62,07 100 30,77	24,52 51,42 62,86 100 35,90
- 7° C; vom 5. Januar bis 2. Februar	50	34,40	87,82	81,43
6. Februar	85.71	51.16	82.18	93.13

nahmen trotz angestrebter Abhärtung so geringe Frostresistenzunterschiede, daß sie für die vorliegende Fragestellung nicht ausgewertet werden konnten.

Ergebnis: Das Ergebnis der Versuche zeigt eindeutig, daß für die Kälteresistenz von Sorten bei länger dauerndem Gefrieren dieselbe Reihenfolge besteht wie bei 24 Stunden dauernder Abkühlung auf tiefere Temperaturen. Bei der künstlichen Frosthärtebestimmung führt demnach das bisher geübte Verfahren zu sicherem Erfolg. Die in unseren Versuchen über den Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung auf die Frostresistenz gewonnenen Erfahrungen scheinen nur für jene besonderen Verhältnisse zu gelten. Eine Erklärung wird an späterer Stelle (S. 140) gebracht.

Für die in Tabelle 11 und 12 genannten Sorten ergab sich folgende Frostresistenzreihe: Friedrichswerther Berg > Werthers Ettersberger > Mansholts Groninger > Eckendorfer Mammuth bzw. Zapfs Landweizen > Buchers begrannter Landweizen > Weihenstephaner Diva und Tassilo.

Die Tatsache, daß sich die zwei xerophytischen Weizensorten als resistenter erwiesen haben als die hygrophytischen und daß in besonderen Versuchen ein ähnlich eindeutiges Ergebnis mit den Sommergerstensorten Drossenfelder Frankonia (xerophytisch) und Ackermanns Bavaria (hygrophytisch), sowie den Hafersorten Strubes Schlanstedter Weißhafer (hygrophytisch) und von Lochows Petkuser Gelbhafer (xerophytisch) erhalten wurde, läßt die Annahme einer engen Beziehung zwischen der Fähigkeit, ein Austrocknen mehr oder weniger gut zu ertragen und der Frostresistenz nicht unbegründet erscheinen. Sie erfährt auch durch eine erst vor kurzem erschienene Arbeit von Iljin (15), der in sorgfältigen Experimenten nachwies, daß der durch Eisbildung verursachte Kältetod mit dem Vertrocknungstod gleichzusetzen ist, eine starke Stütze.

#### II. Teil.

Untersuchungen über den Einfluß niederer Temperaturen auf den N-Stoffwechsel winterfester Pflanzen.

Bereits von mehreren Seiten liegen Angaben darüber vor, daß auch der N-Stoffwechsel bei niederen Temperaturen in andere Bahnen gelenkt wird als bei höheren Temperaturen. So hat schon Müller-Thurgau (28) 1882 bei Kartoffelknollen und später Schaffnit (34) bei Winterroggen, Raps. Weizen und Bohnen festgestellt, daß bei niederen Temperaturen die leicht löslichen N-Verbindungen zunehmen. Zu demselben Ergebnis führten Untersuchungen Harveys (13) an Kohlpflanzen und R. Newtons (30), sowie R. Newtons und W. R. Browns (31) an Winterweizen. Die Zergliederung der N-haltigen Substanz wurde von Schaffnit durch Bestimmung des Gesamt- und des sogenannten Eiweiß-N Newton trennte in Aminosäuren-, in durch Essigsäure vorgenommen. und Kochen koagulierbaren und in Gesamt-N. Die Vermehrung der löslichen N-Verbindungen deutete Schaffnit dahin, daß durch die Überführung kompliziert gebauter N-Körper in einfachere und stabilere Stoffe die durch den Gefrierprozeß erfolgende Aussalzung der Eiweißstoffe geringer und dadurch die Frostresistenz erhöht würde. Newton bestimmte, von ähnlichen Gedankengängen geleitet, in mehreren Jahren die N-Fraktionen von Freilandpflanzen von Weizensorten bekannter Frostresistenz. Der Grad des "protein-splitting" ließ jedoch zur relativen Frosthärte dieser Sorten keine Beziehung erkennen. In ihren vor kurzem veröffentlichten Untersuchungen haben sich Schaffnit und Lüdtke (35) gleichfalls mit den unter dem Einfluß niedriger Temperaturen erfolgenden Veränderungen der N-haltigen Substanz befaßt. Aus verschiedenen Gründen erscheint es zweckmäßig, erst an späterer Stelle darauf einzugehen.

Der kurze Literaturabriß zeigt schon, daß unsere Kenntnisse über den N-Stoffwechsel der Pflanzen bei niederen Temperaturen. soweit er für die Kältewiderstandsfähigkeit in Betracht gezogen und mit Hilfe der bisher entwickelten Methoden einer Untersuchung zugänglich wurde, noch lückenhaft sind. Eine erfolgreiche Untersuchung dieses Fragenkomplexes setzt vor allem voraus, daß sie unter genau kontrollierbaren Versuchsbedingungen ausgeführt wird. Aber selbst dann dürfte eine zulässige und nützliche Erörterung über die Bedeutung der gewonnenen Resultate für die Kälteresistenz nur gegeben sein, wenn sie auch die anderen gleichzeitig eintretenden physiologischen Veränderungen berücksichtigt und wenn außerdem die Resultate an Pflanzen ganz verschiedener Kälteempfindlichkeit gewonnen wurden, Forderungen, denen von uns weitgehend Rechnung getragen werden konnte.

Die nachstehend mitgeteilten Untersuchungen über den N-Stoffwechsel der Pflanzen bei niederen Temperaturen erstreckten sich in der Hauptsache einmal auf seine Beeinflussung durch ober- und unterhalb 0°C gelegene Temperaturen bei mehreren Sorten der Wintergetreidearten und bei Raps, zum anderen auf seine Abhängigkeit von verschiedener Mineralsalzernährung unter den gleichen Bedingungen.

Die Zergliederung der N-haltigen Substanz wurde nach der von Mothes (26) und Engel (6) genau beschriebenen Methode vorgenommen. Die unter Toluolzusatz möglichst rasch und fein zerriebene, frisch geerntete Substanz wurde mit heißer 1% iger Tanninlösung, die 0,1% Schwefelsäure enthielt, versetzt und nach mehrstündigem Stehen in der Kälte filtriert. Der Niederschlag enthielt dann alle Eiweißkörper (als E. N. bezeichnet) von etwa fünf Peptiden an; im Filtrat waren die löslichen N-Verbindungen (als l. N. bezeichnet) enthalten. Der E. N. und l. N. wurde nach dem Mikrokjeldahlverfahren zu Ammoniak reduziert und in vorgelegte n/100 Schwefelsäure überdestilliert. Im Filtrat wurden außerdem das präformierte Ammoniak nach Zusatz von Magnesiumoxyd und der Amidstickstoff nach Hydrolyse mit Schwefelsäure, Neutralisation mit Natronlauge und Zusatz von Magnesiumoxyd durch Destillation bei 50% C bestimmt. In den nachfolgenden Tabellen ist stets die gefundene N-Menge in Milligramm, auf 1 g Frisch- bzw. 1 g Trockengewicht bezogen, angegeben.

## 1. Der N-Stoffwechsel von Getreidesorten bekannter Frostresistenz bei verschiedenen Temperaturen

Die Auswahl der Versuchspflanzen wurde so vorgenommen, daß alle vier Getreidearten vertreten waren und die Frostresistenz der einzelnen Sorten bekannt war (vergl. Tabelle 10 und 11). Die Anzucht der Pflanzen erfolgte bei gleicher normaler Düngergabe in Vegetationsgefäßen, die in der ungeheizten Vegetationshalle Aufstellung fanden. Die Pflanzen entwickelten sich bei der herrschenden Temperatur von etwa 6° bis 10° C gleichmäßig und waren bei ihrer Verwendung in der Ausbildung des vierten Blattes begriffen. Zu den Analysen benutzte man nur die zweiten und

Tabelle 13. N-Bilanz von Getreidesorten bei vorschiedener Temperatur.

		ION WATERCOME	ten sei telsenteuener lemperatur.	or remperatu	<u>.</u>		
Sorten	Zeit und Temperatur	Trocken- substanz in Prozenten	Auf 1 g Fr bez	Auf 1 g Frischgewicht bezogen	Auf 1 g Tro	Auf 1 g Trockengewicht bezogen	l. N in Prozenten
		aer Frisch- substanz	mg E. N	mg l. N	mg E.N	mg l. N	Gesamt-N
Griesings Sporen Winter-Hafer	6 bis 10° C, 14. März, Licht — 2° C, 29. März, Licht — 5° C, 23. März, dunkel	14.89 28,46 19.54	8.0762 11,135 9,0877	1,1217 2,7686 1,9649	54,217 39,12 46,519	7,5302 9,7267 10,057	12,19 19,93 17.74
Friedrichswerther Berg Winter-Gerste	6 bis 10° C, 14. März, Licht  — 2° C, 29. März, Licht  — 5° C, 28. März, dunkel	15,04 27,59 15,985	6,3218 10,686 7,8817	0,7117 2,3396 1,3067	42,044 38,736 49,3068	4,7333 8,4808 8,1745	10,10 17,96 14,25
Eckendorfer Mammuth Winter-Gerste	6 bis 10° C, 14. Mārz, Licht — 2° C. 29. Mārz, Licht — 5° C. 28. Mārz, dunkel	14,34 26,79 15,84	7,1348 $10,011$ $7,695$	0,73629 $2,5291$ $1,3389$	49,7649 37,364 48,5918	5,13559 9,4394 8,4548	9,35 20,18 14,83
Strubes Dickkopf Winter-Weizen	6 bis 10° C, 14. März, Licht  — 2° C, 29. März, Licht  — 5° C, 24. März, dunkel	15,07 28,22 19,07	6,7653 9,882 8,9979	2,4804 1,584	44,88 35,013 47,196	8,7886 8,3084	20,06 14,94
Criewener 104 Winter- Weizen	6 bis 10°C, 15. März, Licht — 2°C, 29. März, Licht — 5°C, 24. März dunkel	16,68 26,53 20,28	7,9969 10,289 8,7579	0,88145 2,572 1,3543	47,9459 38,7898 43,196	5,2849 9,6965 6,6797	9,91 19,98 13,35
Svalöfs Svea Winter- Weizen	6 bis 10°C, 15. März, Licht — 2°C, 29. März, Licht — 5°C, 24. März, dunkel	17,91 28,53 22,016	10,246 10,488 9,817	1,348 2,3454 1,5159	57,2146 36,766 44,59	7,5274 8,2219 6,8854	, 11,63 18,30 13,43
Minhardi Winter-Weizen	6 bis 10° C, 15. März, Licht  — 2° C, 29. März, Licht  — 5° C, 24. März, dunkel	24,16 30,11 27,51	11,854 10,236 11,105	1,93875 2,7428 2,1477	49,064 33,99 40,37	8,0246 9,108 7,808	14,07 21,11 16.21
Lochows Petkuser Winter-Roggen	6 bis 10°C, 15. März, Licht  - 2°C, 29. März, Licht  - 5°C, 24. März. dunkel	15,42 39,58 18,20	8,455 15,297 9,0046	1,4736 3.64 1.6746	54,84 38,65 49,489	9,558 9,197 9,2036	14,80 19,22 15,65

dritten Blättchen, um möglichst gleichwertiges Material zu haben. Das Frischgewicht der zu einer Analyse verwendeten Blätter betrug gewöhnlich 2—3 g. Zu den Bestimmungen an Roggen ist zu bemerken, daß die Aussaat etwa 14 Tage später erfolgte und daher das erste und zweite Blättchen verarbeitet werden mußte. Die Temperatur- und Lichtbedingungen, unter denen sich die Pflanzen befanden, als sie zu den Analysen verwendet wurden, waren folgende:

- 1. normale Temperatur: 6° C bis 10° C, in der Vegetationshalle;
- 2. -2°C, in einem gekühlten Gewächshaus vom 12. März bis 29. März;
- 3. -5°C bis -6°C, in einem Dunkelraum vom 12. März bis 24. März.

Die Überführung der Pflanzen aus der Vegetationshalle in die auf  $-2^{\circ}$  bzw.  $-5^{\circ}$  bis  $-6^{\circ}$  C gekühlten Räume fand nicht unmittelbar statt, sondern erst nachdem die Pflanzen vom 3. März bis 12. März bei  $+2^{\circ}$  C abgehärtet worden waren. Die nach obiger Behandlung gewonnenen Resultate sind in Tabelle 13 zusammengestellt.

Ergebnis: Der jeweils gleichzeitig bestimmte Trockensubstanzgehalt zeigt, von Roggen und Hafer abgesehen, sowohl bei +6° bis +10° C als auch bei -5° C die genaue Reihenfolge der Frostresistenz an, eine Beziehung, auf die man bei Getreidesorten schon früh aufmerksam geworden war (Seelhorst 38, Sinz 39 u. a.).

Was die jeweils gefundene Gesamtstickstoffmenge betrifft, so ließ sie, auf Trockengewicht bezogen, keinen Zusammenhang mit der Frostresistenz erkennen; dagegen kommt bei einer Berechnung auf das Frischgewicht zum Ausdruck, daß sie bei den schwedischen Sorten größer war als bei den weicheren deutschen Weizensorten. Eine größere Bedeutung kann aber diesem Befund nicht beizumessen sein, da er sich offensichtlich als eine Auswirkung des jeweiligen Wassergehaltes darstellt. Das zeigen auch die Versuche Newtons an Freilandpflanzen, deren Durchschnittswerte für den Totalstickstoff und sogenannte "kompliziertere N-Verbindungen" Äkerman (1) zusammengestellt hat. Ich gebe diese Tabelle wieder (Tabelle 14), ergänzt durch die Berechnung auf Trockengewicht.

Tabelle 14
N-Gehalt einiger Weizensorten nach Newton.

Trocken-		Prozente des Frischgewichts		Prozente des Trockengewichts	
Sorte	substanz- gehalt in Prozenten	Totaler N-Gehalt	Kom- pliziertere N-Ver- bindungen	Totaler N-Gehalt	Kom- pliziertere N-Ver- bindungen
1. Minhardi	28,22 21,91 20,94 21,07 20,12	6,50 6,21 . 6,09 5,79 5,82	6,249 5,908 5,799 5,552 5,329	27,99 28,34 29,08 27,48 27,48	26,91 26,96 27,69 26,35 26,49

Tabelle 15. N-Bilanz von Weizensorten bei niederen Temperaturen.

cht Amid-N in Prozenten	des	0,1528 17,07	0,0588 2,587
	mg löslichen	0,1086 8,105	0,142 8,332
	Amid-N N	0.1448 6,729	0.0815 4,424
Auf 1 g	Z mg n	0,0218 0,1	0,0179   0,0
Frischgewicht		0,0362 0,1	0,0142   0,1
bezogen		0,04138 0,1	0.0163   0,1
mg N auf 1 g	Trocken- substanz	44,8 49,6 49,0	42,6 52,1 53,2
Auf 1 g	mg E.N mg l.N	5.0036	8,1733
Trockengewicht		9,3837	9,4113
bezogen		7,511	7,623
Auf		39.783	34,369
Trockei		40,2409	42,6646
bez		41.4555	45.602
I. N	mg l. N Gesamt-N	11,17	19,21
in		18,91	18,07
Prozenten		15.34	14,33
Auf 1 g	mg 1. N	0.895	2,273
Frischgewicht		1,3399	1,7042
bezogen		2,1519	1,8423
	mg E.N	7,116 5,746 11,877	9,558 7,7257 11,021
Trocken- substanz in t Prozenten	der Frisch- substanz	17,887 14,279 28.65	27,81 18,108 24,168
Temperatur und Zeit		General +2°C; hell, 22. März v. Stocken +2°C; dunkel; 22. März -2°C; hell: 22. März	2° C; hell; 28. März 2° C; dunkel; 28. März 5° C; dunkel; 23. März
Norte		General v. Stocken	Sammet- weizen

Dabei gelten Weizen 1 und 2 als kälteresistente, Weizen 2 und 3 als intermediäre und Weizen 5 als weniger resistente Sorten.

Wichtiger als der absolute N-Gehalt war für unsere Problemstellung die Veränderung der N-Komponenten unter den gesetzten Bedingungen. An Hand der letzten Rubrik der Tabelle stellen wir fest, daß sowohl bei den belichteten und bei  $-2^{\circ}$  C gehaltenen Pflanzen als auch bei den bei  $-5^{\circ}$  C im Dunkeln stehenden das Verhältnis l. N. zu E. N. gegenüber dem der bei  $+6^{\circ}$  C bis  $+10^{\circ}$  C gehaltenen Pflanzen erhöht wurde. Die der Erhöhung dieses Verhältnisses zugrunde liegenden Vorgänge sind aus Tabelle 13 nicht ohne weiteres ersichtlich, da die bei  $+6^{\circ}$  C bis  $+10^{\circ}$  C gefundenen Werte deshalb nicht zum Ausgangspunkt genommen werden können, weil die zwei bei  $-2^{\circ}$  C und  $-5^{\circ}$  C gehaltenen Reihen vorher (vom 3. März bis 12. März) bei  $+2^{\circ}$  C abgehärtet worden waren. Eine Vergleichsbasis geben aber die in der nächsten Übersicht (Tabelle 15) zusammengestellten Resultate.

Zu diesen Versuchen ist ein Teil der Pflanzen der Sorte General von Stocken vom 3. bis 22. März bei  $+2^{\circ}$  C verblieben; je ein anderer wurde nach Abhärtung bei  $+2^{\circ}$  C (vom 3. März bis 12. März) am 12. März bei  $+2^{\circ}$  C verdunkelt bzw. bei  $-2^{\circ}$  C am Licht gehalten.

Die zweite Sorte, Sammetweizen, kam nach erfolgter Abhärtung bei  $+2^{\circ}$  C (vom 3. März bis 12. März) am 12. März zum Teil in  $-2^{\circ}$  C am Licht und zu je einem Teil bei  $-2^{\circ}$  C und  $-5^{\circ}$  C ins Dunkle zu stehen. Die Analysen wurden am 28. März, das ist nach 16 Tagen ausgeführt. Von beiden Sorten ist auch jeweils im 1. N. der Ammoniak- und Amid-N. bestimmt worden.

Wir fanden auch hier bei  $-2^{\circ}$  C gegenüber  $+2^{\circ}$  C eine Zunahme des 1. N. (15,34 % gegenüber 11,17 %). Verdunkelung bei + 2 % C wirkte sich in der gleichen Richtung, aber stärker aus als die Temperatursenkung von + 2° C auf - 2° C bei belichteten Pflanzen (18,91°/n gegenüber 15,34 %. Bei Sammetweizen lagen die Verhältnisse nun so, daß der l. N. bei -- 2 C am Licht und bei -- 2 C im Dunkeln etwa den gleichen Anteil 19,21 und 18,07 % vom Gesamt-N ausmachte, während er bei — 5 ° C im Dunkeln deutlich geringer (14,33%) war. Auch in Tabelle 13 kommt trotz der verschieden langen Kühldauer (12 Tage bei -5°C und 17 Tage bei --2° C) zum Ausdruck, daß der Anteil des l. N. am Gesamt-N bei --5° C geringer war als bei - 2° C. Diese Resultate lassen den Schluß zu, daß bei unter etwa — 2º C gelegenen Temperaturen der N-Stoffwechsel bei belichteten und verdunkelten Pflanzen mit der gleichen Intensität und in der gleichen Richtung abläuft und ferner, daß ein weiteres Sinken der Temperatur von etwa — 2º C ab zu einer Hemmung der Vermehrung des l. N. führt.

Was die Zusammensetzung des l. N. selbst betrifft, so scheinen nach Tabelle 15 unter 0°C keine größeren Veränderungen vor sich gegangen zu sein: der Ammoniak-N konnte vernachlässigt werden und der Amid-N schwankte zwischen etwa 3 und 8%. Da nach den Angaben von Mothes (26) der Basen-N stets sehr gering gefunden wurde, dürften es in der Hauptsache Aminosäuren und Peptide gewesen sein, die das Ansteigen des l. N. ausmachten.

Die in unseren Versuchen mit sinkender Temperatur gefundene relative Zunahme des l. N. konnte auf verschiedene Weise zustande kommen: einmal durch eine Neubildung löslicher N-Verbindungen, dann aber auch durch einen Abbau höherer N-Substanzen. Da trotz des hohen Zuckergehaltes eine N-Assimilation bei - 5° C und bei - 7° C (vergleiche auch Tabelle 16 und 17) wahrscheinlich nicht stattfindet, ist die Zunahme des l. N. auf hydrolytische Spaltungsvorgänge zurückzuführen. Als im vorliegenden Fall praktisch einzig mögliche Berechnungsgrundlage kann wohl nur das Trockengewicht genommen werden, wovon der Gesamt-N etwa 4,5 bis 6,5 % ausmacht. Es ergibt sich bei General von Stocken bei + 2° C im Dunkeln und - 2° C im Licht eine gleich starke Zunahme des Gesamt-N von 44.8 auf 49.6 bzw. 49 mg auf 1 g Trockensubstanz. Dasselbe läßt sich für Sammetweizen bei -2° C und - 5° C im Dunkeln gegenüber -2° C hell feststellen und kommt nach Tabelle 13 beim Vergleich von - 2° C hell und - 5° C dunkel zum Ausdruck. Grundsätzlich das gleiche Ergebnis wurde bei Raps (Tabelle 17) erhalten. Da bei Temperaturen von - 5° (' und - 7° (' auch kaum mit einer N-Wanderung zu rechnen sein dürfte, muß die Ursache dieser N-Zunahme in einem Trockensubstanzverlust gesehen werden. Dieser Trockensubstanzverlust ist in erster Linie durch die Veratmung von Kohlehydraten bedingt, was durch die Abnahme des auf die Trockensubstanz bezogenen Zuckergehaltes bewiesen wird. Der Gesamtzuckergehalt betrug z. B. bei Weizen, Roggen und Hafer nach guter Abhärtung 152,28, 138,89 und 120,55 mg auf 1 g Trockensubstanz. Nach neuntägigem Stehen bei -- 2° (' im Dunkeln wurden folgende Zuckermengen erhalten: 57.51, 62,56 und 79,02 mg.

Daß diese relative Zunahme des Gesamt-N auch bei — 2° C am Licht vor sich geht, deutet darauf hin, daß unter diesen Bedingungen die Kohlensäure-Assimilation nicht mehr ausreicht, den Substanzverlust infolge Atmung zu decken, was durchaus erklärlich erscheint, da die Pflanzen unter diesen Bedingungen stark gewelkt sind und Welken bekanntlich zu einer Depression der Assimilation führt (Walter, 43, Iljin, 16 u. a.).

Bevor wir die oben mitgeteilten Resultate in bezug auf die jeweilige Frostresistenz erörtern wollen, ist es zweckmäßig, die mit verschieden ernährten Pflanzen angestellten Versuche anzuführen.

# Der N-Stoffwechsel verschieden ernährter Pflanzen bei niederen Temperaturen.

Zu diesen Versuchen ist Friedrichswerther Berg Wintergerste und Winterraps verwendet worden. Die Anzucht erfolgte unter den üblichen

Tabelle 16. N-Bilanz von verschieden ernährter Gerste bei niederer Temperatur.

P	P +	ĭ	+	Ķ.	<b>K</b> +	В	Ernährung
27. Februar bis 17. März, bei — 7° C, dunkel	27. Februar bis 4. März, bei + 1°C, Licht 4. März bis 18. März, bei - 7°C, dunkel 4. Marz bis 31. März, bei - 7°C, dunkel	27. Februar bis 17. März, bei — 7° C, dunkel	27. Februar bis 1. März, bei + 1°C, Licht 3. März bis 17. März, bei - 7°C, dunkel 3. März bis 31. März, bei - 7°C, dunkel	27. Februar bis 4. März, bei + 1°C, Licht 4. März bis 18. März, bei - 7°C, dunkel 4. März his 31. März, bei - 7°C, dunkel	27. Februar bis 4. März, bei + 1°C, Licht 4. März bis 18. März, bei - 7°C, dunkel 4. März bis 31. März, bei - 7°C, dunkel	27. Februar bis 2. März, bei + 1°C, Licht 3. März bis 17. März, bei - 7°C, dunkel 3. März bis 31. März, bei - 7°C, dunkel	Zeit und Temperatur
32,83	17,41 30,13 37,24	31,42	17,06 24,28 41,46	17,63 27,13 38,71	16,98 24,44 38,98	16,97 24,99 45,36	Trocken- gewicht in Prozenten des Frisch- gewichtes
10,251	7,056 11,42 14,24	11,22	8,098 12,48 21,84	7,808 11,83 16,89	6,57 11,03 16,66	6,94 11,38 19,34	In 1 g Fris
2.681	0,88 1,702 2,796	2,359	1,10 2,227 4,677	0,985 2,123 2,696	0,845 1,872 3,422	1,03 1,972 4,017	In 1 g Frischsubstanz mg E. N   mg l. N
20,65	11,09 12,97 16,41	17,78	11,96 15,14 17,64	11,20 15,21 14,04	10,37 14,51 17,04	12,92 14,77 17,20	1. N in Prozenten des Gesamt-N
31,22	40,53 37,9 38,28	35,7	47,46 51.39 52,68	44,29 43,6 43,63	38,7 45,13 42,74	40,89 45,55 42,64	In 1 g Trocl
8,166	5,055 5.648 7,507	7,507	6,447 9,17 11,28	5,587 7,825 6,964	4,477 7,659 8,779	6,069 7,892 8,856	rockensubstanz
39,39	45,59 43,55 45,74	42,21	53,91 60,56 63,96	49,88 51,43 49,59	43,18 52,79 51,52	46,96 53,44 51,50	Gesamt-N in 1 g Trocken- substanz

50	Zeit und Temperatur	ockensubstanz Prozenten der ischsubstanz	Auf Fri gew	1 g sch- icht	in Prozenten Gesamt-N	Auf Troo gew	nt-N Trocken-	
Ernährung	note une remperatur	Trockensubstan in Prozenten de Frischsubstanz	mg E. N	mg l. N	l. N in P des Gesa	mg E. N	mg l. N	mg Gesamt-N auf 1 g Trock substanz
K +	15. März auf Wagen im Freien	19,68 24,33 29,92	7,131 9,885 11,43	0,8635 1,43 2,035	10,80 13,25 15,11	86,22 88,57 88,21	4,386 5,877 6,802	44,85
к —	15. März im Freien auf Wagen	18,03 24,43 28,12	7,603 11,07 14,25	2,313	15,77 17,28 18,84	42,16 45,32 50,67	7,896 9,47 11,76	50,06 54,79 62,43

Tabelle 17. N-Bilanz von Raps bei verschiedenen Kaligaben und niederer Temperatur.

Ernährungsbedingungen in Kisten. Die Temperaturverhältnisse in der Vegetationshalle, wo die Pflanzen im Januar und Februar 1933 aufgestellt waren, führten zu einem guten Abhärtungszustand. Vor der ersten N-Bestimmung kamen die Pflanzen auf drei bis fünf Tage in die kühlbaren Gewächshäuser bei  $+1^{\circ}$ C  $\pm1^{\circ}$ C zu stehen. Dann wurden die Kisten in den Dunkelraum, wo die Temperatur auf -6 bis  $-7^{\circ}$ C eingestellt war, gebracht und nach 14 und 28 Tagen die zweite und dritte N-Bestimmung ausgeführt. Diese Versuchsanlage ermöglichte einmal, eine etwa vorhandene Beziehung zwischen N-Bilanz und Frostresistenz bei kurz dauernder Kühlung festzustellen und dann ein Urteil darüber zu gewinnen, inwieweit eine Veränderung des N-Stoffwechsels unter den Bedingungen der Dauerkühlung als Ursache des Absterbens in Betracht zu ziehen ist.

Bei Gerste wurde wieder das zweite und dritte Blatt zu den Analysen verwendet, bei Raps ebenfalls nur zweite und dritte Blätter, aber unter Ausschluß des Blattstieles und des unteren Teiles der Mittelrippe. Die gefundenen Resultate sind in Tabelle 16 und 17 zusammengestellt. Wegen Materialmangels konnte für die N—- und P—-Pflanzen der Gerste nur je eine Analyse durchgeführt werden. Bei Raps ist nur der Einfluß von K-Mangel und K-Überschußernährung geprüft worden. Die Ernährungsunterschiede waren bei beiden Versuchspflanzen äußerlich gut erkennbar. Zur Zeit der dritten Bestimmung waren die K—- und N+-Pflanzen schon stark geschädigt. Die ältesten Blätter waren völlig erfroren, die zweiten lebten nur noch teilweise. Bei den übrigen Ernährungsarten erwiesen sich die Pflanzen nach dem Auftauen noch als gesund.

Ergebnis: Was den Gesamt-N betrifft, so war er bei N-Überschuß und K-Mangelernährung, auf Frisch- und Trockengewicht bezogen, am höchsten, eine Tatsache, die mit den Ergebnissen anderer Autoren (Schaffnit und Lüdtke 35, Gaßner und Franke 8) übereinstimmt. K-Überschuß,

P- und N-Mangel führten zu einer Depression des N-Gehaltes. Mit der Temperatursenkung und der Dauer der Abkühlung verschob sich ebenso wie im Sortenversuch das Verhältnis Gesamt-N zu Trockensubstanz zu Gunsten des ersteren. Abweichungen von dieser Regel dürften durch individuelle Verschiedenheiten der Blattproben verursacht worden sein. Die Veränderungen innerhalb der N-Verbindungen kommen durch das Verhältnis  $\frac{l.\ N}{E.\ N}$  zum Ausdruck. Dieser Quotient vergrößerte sich mit der Kühldauer und wurde bei P-Mangel am größten gefunden.

Fassen wir das Ergebnis der gesamten oben mitgeteilten N-Untersuchungen zusammen, dann konnte unter den gesetzten Bedingungen in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von anderer Seite mit dem Absinken der Temperatur eine Vermehrung¹) des löslichen N festgestellt werden, die durch hydrolytische Spaltung höherer N-Verbindungen vorwiegend in Aminosäuren zustande kam. Bei tiefer als — 2° C gelegenen Temperaturen wurde dieser Prozeß verlangsamt.

Die als Folge der Einwirkung niederer Temperaturen gefundenen Veränderungen des Verhältnisses  $\frac{l.\ N}{E.\ N}$  müssen aber als gering bezeichnet werden, besonders wenn man die nach Abschluß unserer Untersuchungen veröffentlichten Ergebnisse von Gaßner und Franke (8) zum Vergleich heranzieht. Genannte Autoren fanden für 13 Tage alte und bei 18 bis 20 °C gewachsene Weizenpflänzchen, daß der Anteil des l. N am Gesamt-N bei Sorten etwa 13 bis 20 °/0 und bei verschiedener Ernährung 11 bis 37 °/0 betrug. Was schließlich den Einfluß des veränderten N-Stoffwechsels auf die Frostresistenz betrifft, so konnte weder in dem Verhalten der Sorten noch in dem der verschieden ernährten Pflanzen ein Hinweis auf eine bestehende Beziehung gefunden werden.

Für die Theorie, nach der durch eine Umwandlung in einfachere N-Verbindungen die Menge der durch das Gefrieren denaturierbaren

¹) Nach dem Abschluß des Manuskriptes zu dieser Arbeit erschien eine Arbeit von Gaßner und Franke (9), in der der Einfluß der Temperatur auf den N-Gehalt junger Weizenpflanzen in Zusammenhang mit dem Rostresistenzproblem untersucht wurde. Die Autoren fanden, daß sich das Verhältnis des l.N. zum E.N. bei 5 und 10° C gegenüber dem bei 20°C zugunsten des E.N. verschob. Ein Widerspruch mit meinen Ergebnissen kann darin nicht gesehen werden, da die Ausgangswerte bei 6 bis 10°C größenordnungsmäßig etwa mit denen von Gaßner und Franke bei 5°C übereinstimmen. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß das Verhältnis l.N.: E.N. bei etwa 5°C ein Minimum erreicht und sowohl bei höherer als auch bei tieferer Temperatur größer wird. Inwieweit für den Verlauf dieser Kurve das Licht, die Kohlensäureassimilation und Wachstumsvorgänge von Bedeutung sind, wäre natürlich besonders zu prüfen.

Eiweißkörper vermindert und so die Frostresistenz erhöht würde, könnte in unseren Versuchen insofern eine Stütze gesehen werden, als die Wachstumsbedingungen, unter denen am Licht der l. N vermehrt wurde, tatsächlich zu einer Abhärtung und Erhöhung der Frostresistenz führten. Aber abgesehen von den übrigen, unter diesen Bedingungen gleichfalls eingetretenen physiologischen Veränderungen und den oben bei Sorten und bei verschiedener Ernährung gemachten Erfahrungen, sprechen die folgenden Versuche gegen eine größere Bedeutung dieses Vorganges für die Kälteresistenz bzw. den Kältetod.

Gut abgehärtete und vom 7. März 1934 ab bei  $+1\,^{\circ}$  C  $\pm 1\,^{\circ}$  C gehaltene Weizenpflanzen (Criewener 104) wurden am 13. März zum Teil im Dunkelraum bei  $-5\,^{\circ}$  C, zum Teil am Licht bei  $-2\,^{\circ}$  C aufgestellt. Die Frostresistenz wurde nun in kurzen Zeitabständen durch 24stündiges Gefrieren in der üblichen Weise bei -12 bis  $-14\,^{\circ}$  C ermittelt. Die Resultate sind in der nächsten Tabelle niedergelegt (Tabelle 18).

Tabelle 18.

Frostresistenz von Weizenpflanzen,
die bei — 2° C am Licht bzw. bei — 5° C im Dunkeln gehalten worden waren.

Tote Teile in Prozenten der oberirdischen Pflanzenmasse.

Datum und Gefriertemperatur	vorher bei – 2° C	vorher bei — 5 ° C
17. März — 12 " ('	40	0
19. März — 13 ° C	30,88	0
21. März — 13 ° C	o´	0
24. März — 14 ° C	96,36	81,97
27. März — 13 bis 14 °C	27,54	46,30
29. März — 13 °C	17,81	56,60

Bis zum 24. März waren demnach die bei - 5 ° C im Dunkeln stehenden den bei - 2º C am Licht gehaltenen Pflanzen in bezug auf Frosthärte überlegen und erst vom 27. März ab stellte sich die umgekehrte Reihenfolge ein. Dabei war in den ersten 12 Tagen einerseits der Wassergehalt geringer und andererseits der Gehalt an Zucker und löslichen N-Verbindungen bei den weniger resistenten Pflanzen höher als bei den Vergleichspflanzen (vergl. Tabelle 13 und 15). Es ist ersichtlich, daß bei - 2°C die Frostresistenz eine stete Steigerung erfuhr, während sie bei -5°C nach etwa zehn Tagen deutlich abnahm. Dieser Versuch offenbart in deutlichster Weise das Ineinandergreifen und Überschneiden der Faktoren, die beim Gefrieren der Pflanzen über Leben und Tod entscheiden und deren Zergliederung in vielen Fällen fast unmöglich erscheint. Es ist wahrscheinlich, daß in den eben erwähnten Versuchen auch die Geschwindigkeit des Gefrierens von Einfluß war; denn bei -2°C waren die Pflanzen noch nicht gefroren, während bei - 5° C ein Teil des Zellwassers schon in Eis übergegangen war.

Versuche über den N-Haushalt verschieden ernährter Sommerweizenpflanzen und seine Abhängigkeit von der Temperatur haben vor kurzem Schaffnit und Lüdtke (35) veröffentlicht. Ihre Ergebnisse sind mit den unsrigen nur schwer zu vergleichen; denn sowohl die Versuchsbedingungen als auch die Methode der Zergliederung der N-haltigen Substanz unterschied sich stark von der unsrigen. Schaffnit und Lüdtke brachten die bei einer Temperatur von etwa 20° C gewachsenen Pflanzen auf drei Tage in einen auf 0 0 C gekühlten Raum, schnitten nach dreitägigem Stehen einen Teil dieser Pflanzen ab und ließen ihn bei - 15° C während 24 Stunden gefrieren. Zur Aufarbeitung wurden die ganzen Pflanzen durch eine Fruchtpresse getrieben, der Pflanzenbrei während drei Tagen mit 10 % iger Kochsalzlösung extrahiert und das Filtrat mit Alkohol versetzt. Auf diese Weise gewannen sie drei Fraktionen: 1. Einen in Kochsalz löslichen und mit Alkohol fällbaren N-Anteil (Eiweißstoffe). 2. Einen in Kochsalz unlöslichen Anteil (u. a. Chlorophyll enthaltend). 3. Einen in Kochsalz und Alkohol löslichen Anteil (Aminosäuren u. ä.).

Was den Gesamt-N der verschieden ernährten Pflanzen betrifft, so stimmen ihre Ergebnisse mit den eigenen grundsätzlich überein. Obwohl ihr in Lösung gebliebener N einen höheren Anteil des Gesamt-N ausmacht als der nach der Tanninmethode ins Filtrat gehende lösliche N, besteht Übereinstimmung auch darin, daß bei N+-, P+- und K--Ernährung der l. N bei 0°C höher gefunden wurde als bei 25°C (vergl. Tabelle 14 ihrer Arbeit); bei den N--, K+- und n-Pflanzen konnten sie dagegen keine deutliche Verschiebung feststellen. Für die Veränderung der kochsalzlöslichen Eiweißkomponente und den im Rückstand verbliebenen N läßt die Verschiedenheit der von jenen Autoren und uns angewendeten Methoden keinen sicheren Vergleich zu. Es könnte darauf hingewiesen werden, daß die kochsalzlösliche Eiweiß-Fraktion, auf Trockengewicht bezogen, im allgemeinen bei 0°C abnahm, was unserem bei Sorten erhaltenen Befund für den E. N bei -2°C entsprechen würde.

In bezug auf den Kernpunkt des uns interessierenden Problems, nämlich die Frage, inwieweit die bei etwa 0°C vor sich gehenden N-Umlagerungen an der Abhärtung bzw. Resistenzerhöhung der Pflanzen beteiligt sind und inwieweit ihr Verlauf bei tieferen Temperaturen als eine mögliche Ursache des Kältetodes anzusehen ist, lassen sich die Versuche der genannten Autoren nicht auswerten.

3. Versuche über das Verhalten der Eiweißstoffe beim Gefrieren von Preßsäften, die von K+- und K--Pflanzen gewonnen waren.

Als einer der Beweise für die Ansicht, daß bei dem durch das Gefrieren der Pflanzen eintretenden Kältetod die Kolloide und insbesondere die Eiweißstoffe des Protoplasmas ausgesalzen bzw. infolge Entquellung

irreversibel verändert werden, gilt die von verschiedenen Seiten (Gorke, 11. Schaffnit, 34 u. a.) festgestellte Tatsache, daß in Preßsäften, die dem Gefrieren ausgesetzt wurden. Niederschläge entstehen. koagulierten Eiweißstoffen bestehen sollen. Daß echte Eiweißstoffe nur einen geringen Anteil an diesen Niederschlägen ausmachen, haben vor kurzem Schaffnit und Lüdtke (35) gezeigt. Was die sogenannte Aussalzungstheorie betrifft, so kann sie schon nach dem Ergebnis der Versuche Maximows nicht mehr in der ursprünglichen Form aufrecht erhalten werden; sie verliert auch an Wahrscheinlichkeit dadurch, daß Pflanzen, deren Aschengehalt durch entsprechende Düngung erhöht wurde, im Gegensatz zu den Forderungen der Theorie eine größere Frostresistenz zeigen als solche, deren Salzgehalt niedriger war (Chandler, 4, Magistad and Truog, 22). Ein Vergleich des Aschengehaltes der verschieden ernährten Weizenpflanzen nach der Arbeit von Schaffnit und Lüdtke mit dem Ergebnis der Frostresistenzbestimmungen aus unseren eigenen Versuchen führt zu dem gleichen Resultat. Dagegen erfährt die Ansicht, daß die Plasmakolloide beim Gefrieren durch starken Wasserentzug entquollen und dadurch in ihren Eigenschaften verändert werden, durch die Versuche von Lottermoser, (20), Bobertag und Mitarbeiter (3), H. W. Fischer (7), die mit Kolloiden bekannter Zusammensetzung arbeiteten, und durch die jüngsten Versuche von Newton and Brown (32), sowie von Mudra (27), die die in Preßsäften enthaltenen Kolloide gefrieren ließen, eine gute Stütze.

Wenn auch gegenüber allen Versuchen mit Preßsaft der Einwand zu machen ist, daß bei ihrer Herstellung eines der wichtigsten Kennzeichen der lebenden Substanz, nämlich ihre Struktur, zerstört wird, und daß die Plasmastoffe mit dem Zellsaft gemischt werden und dadurch schon ihre Denaturierung erfolgen kann, so muß doch betont werden, daß bestimmte Stoffe ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften behalten und im Preßsaft Reaktionen geben können, die auch im Plasma gegenüber bestimmten Einwirkungen in der gleichen Weise verlaufen. Es braucht nur an die Fermente und ihre Wirksamkeit in isoliertem Zustand erinnert zu werden, wo doch die Träger der Fermente oder sie selbst sicher zum Teil auch kolloide Substanzen darstellen. Unter dieser Voraussetzung sind auch die im Folgenden mitgeteilten Versuche mit Preßsäften durchgeführt worden Sie waren der Frage gewidmet, ob die im Preßsaft von K+- und K--Pflanzen vorhandenen Eiweißstoffe beim Gefrieren Fällungsunterschiede zeigen, wie man nach dem Verhalten der intakten Pflanzen bei Frosteinwirkung erwarten durfte.

Wir gingen dabei von Preßsäften aus, die von K — und K — Pflanzen gewonnen worden waren. Zu den Versuchen dienten Weizenpflanzen (Sorte General von Stocken), deren Aussaat am 5. März erfolgt war. Als Düngung erhielten bei normalen N- und P-Gaben die einen Reihen kein

Kali¹), die anderen auf ein Vegetationsgefäß mit je 19 Pflanzen 2 g K2O als Kaliumchlorid. Die Anzucht erfolgte in der Vegetationshalle. Eine besondere Abhärtung unterblieb. Bei der Ernte am 13. April befanden sich die Pflanzen im Stadium des Bestockens. Die Kalimangelpflanzen ließen keine Schädigungsmerkmale erkennen, waren aber deutlich kleiner als die Überschußpflanzen. Zur Preßsaftgewinnung wurden die jüngsten Blättchen nicht verwendet, weil in ihnen auch bei Mangelernährung mit einem relativ hohen Kaligehalt gerechnet werden mußte. Der Preßsaft wurde dieses Mal durch feines Zerreiben der kleingeschnittenen Blätter in einem Porzellanmörser und nachheriges Auspressen gewonnen. Durch K- und EK-Schichten von Seitz ließen sich die Säfte blank filtrieren. Der K+-Saft wurde in drei, der K --- Saft in sechs Teile zu je 15 bis 20 ccm geteilt. Der einen Hälfte des K --- Saftes wurde 1,5 % fein gepulvertes Kaliumchlorid allmählich zugesetzt und zur Lösung gebracht. Der KCI-Zusatz war so bemessen worden, daß die nach unseren früheren Messungen der Gefrierpunktserniedrigung in Preßsäften nicht abgehärteter K+- und K---Pflanzen gefundene Gefrierpunktsdifferenz von etwa 0.2° ('ausgeglichen bzw. daß der osmotische Wert der K --- Säfte eher noch etwas erhöht wurde gegenüber dem der unverändert gebliebenen K +-Säfte. Dann wurde ein Teil der Safte (bezeichnet als K+, K- und K-+ K(1) bei 0° belassen, ein anderer während 24 Stunden auf 6°C gekühlt und anschließend ebenfalls in den auf 0° temperierten Raum gebracht; der dritte Teil wurde zuerst 24 Stunden lang bei - 6° C und dann während 12 Stunden bei -12° C gefroren. Nach dem Auftauen bestimmte man in den filtrierten Säften nach der früher geübten Tanninmethode E.N und l.N. Das Ergebnis der Versuche ist in Tabelle 19 zusammengestellt. Leider fiel das Glas mit K + KCl-Saft, der bei - 12° C gekühlt worden war, um und fehlen daher die diesbezuglichen Werte. Während ein Unterschied in der Stärke der bei - 6°C und - 12°C entstandenen Niederschläge makroskopisch nicht zu erkennen war, fielen die gefrorenen K --- und K -- +-KCl-Säfte gegenüber den K + -Säften, die nur schwach getrübt erschienen, durch die Ausbildung eines flockigen Niederschlages auf.

Tabelle 19.

Veränderung des N-Gehaltes des aus K+- und K-- Pflanzen
gewonnenen Preßsaftes beim Gefrieren.
mg E. N und l. N in 10 cm<sup>8</sup> Saft.

Temperatur	K	1	K		K — und K		
	E. N	1. N	E. N	l. N	E. N	1. N	
0 ° C - 6 ° C - 12 ° C	34,65 32,55 32,55	53,2 48,01 47,68	50,82 89,90 89,20	58,80 58,10 52,50	50,82 41,02 —	58,80 58,64	

Da das Substrat aus Flußsand bestand, waren naturlich geringe Mengen Kali vorhanden.

Ergebnis: Dem äußeren Bild entsprechend verhielten sich auch die Mengen der ausgefällten N-Verbindungen. Sie betrugen in den K+-Säften etwa  $6^{\circ}/_{0}$  des E. N und 10 bis  $11^{\circ}/_{0}$  des l. N; dabei hatte die Abkühlung auf  $-12^{\circ}$ C keinen stärkeren Effekt als die auf  $-6^{\circ}$ C. Bei den K--Säften fielen bei  $-6^{\circ}$ C und  $-12^{\circ}$ C etwa  $20^{\circ}/_{0}$  des E. N aus; von dem l. N waren bei  $-6^{\circ}$ C nur geringe Mengen, bei  $-12^{\circ}$ C etwa  $11^{\circ}/_{0}$  in dem Niederschlag enthalten. Für die sogenannten Eiweißstoffe entspricht demnach das Ergebnis den gemachten Annahmen.

Was nun das Verhalten der mit K('l versetzten K—-Säfte betrifft, so wurde eine geringe Abnahme der ausgefällten E. N-Menge, nämlich 9,8 mg statt 10,92 mg auf 50,82 mg des Gesamtgehaltes gefunden. Die Wirkung des nachträglichen Zusatzes von KCl ist gegenüber dem durch die Kalidüngung erreichten Unterschied zwischen K +- und K—-Säften als sehr gering zu bezeichnen. Dem Niederschlag nach beurteilt, war bei —  $12\,^{\circ}$  C die Ausfällung in den K—- und den K—+ KCl-Säften nicht erkennbar verschieden.

Ohne Rücksicht auf die Frage einer spezifischen Wirkung der Kaliernährung auf die Frostresistenz haben R. Newton und W. R. Brown (32) Salzeinflüsse auf das Verhalten der in Preßsäften vorhandenen Eiweißstoffe beim Gefrieren untersucht. In ihren Versuchen verringerte Zusatz von 1% Kochsalz die Stärke der bei – 7% C eintretenden N-Fällung von 43,4% auf 41,5% in Preßsaft, der von normal gezogenen Weizenpflanzen gewonnen worden war. Demnach wäre die Wirkung des nachträglichen KCl-Zusatzes als für Kalium nicht spezifisch anzusehen. Für den durch die K-Düngung erzielten Effekt muß daher angenommen werden, daß Kalium in der lebenden Pflanze mit den Eiweißstoffen eine Adsorptionsoder anders geartete Verbindung eingeht, die bei nachträglichem Zusatz von KCl zum Preßsaft nicht gebildet wird. Dem widerspricht nicht, daß nach Weevers (45) Kalium aus den Pflanzen mit kaltem Wasser völlig extrahiert werden kann und in der Zelle wahrscheinlich nicht in fester organischer Verbindung vorhanden ist.

## C. Besprechung der Ergebnisse.

In der früher veröffentlichten Arbeit wurden vor allem während des Abhärtungsprozesses vor sich gehende physiologische Veränderungen verschieden ernährter Pflanzen studiert und in bezug auf die unter den gesetzten Bedingungen resultierende Frostfestigkeit diskutiert. Jene Untersuchungen erstreckten sich in der Hauptsache auf den Zucker- und Wassergehalt, den osmotischen Wert, den Refraktometerwert und die Wasserstoffionenkonzentration des Preßsaftes der Pflanzen. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen tieferen Einblick in die Wirkungsweise der Hauptnährstoffe auf die Frostresistenz winterannueller Kulturpflanzen zu gewinnen und vor allem zu prüfen, inwieweit Veränderungen der Eiweiß-

stoffe, die während des Abhärtens und während länger dauernder Frosteinwirkung vor sich gehen, nach Ursache und Wirkung mit der jeweiligen Kälteresistenz in Zusammenhang stehen.

Bei den winterharten Gewächsen ist die schädliche Wirkung niederer Temperaturen vor allem in Veränderungen zu sehen, die das Protoplasma als Folge der Eisbildung erleidet. Diese Veränderungen dürften in erster Linie die als chemisch sehr labil bekannten Eiweißstoffe und ihre Verbindungen insbesondere mit Lipoiden betreffen. Von den niederen Temperaturen allein abhängige, letal wirkende chemische Stoffumlagerungen können nicht als Ursache des Zelltodes angesehen werden. Das geht mit hinreichender Deutlichkeit aus den Versuchen Maximows (24), unseren eigenen und besonders den neuesten Experimenten von Iljin (15) hervor. Auf der anderen Seite ist darauf hinzuweisen, daß chemische Veränderungen der Eiweißstoffe sehr wohl unter dem Einfluß der Eisbildung bzw. des Wasserentzuges statthaben können. Beispielsweise sei ein Befund von Todokoro und Joshimura (40) erwähnt, nach dem bei der Hitze-und Kältedenaturation des Orycenins und Glycinins die Menge des freien Amino-N, des Amid-N, des Histidin-N und des Arginin-N zunimmt, während die des Lysin-N abnimmt. Bei der Alkoholdenaturation von Eieralbumin, die ja ebenfalls als Entwässerungsvorgang gedeutet wird, fand A. von Kuth v (19). daß der Amid-N vermindert wurde, der Nicht-Amino-N dagegen zunahm. Was nun bei niederen Temperaturen eintretende Stoffwechselstörungen betrifft, die Schaffnit und Lüdtke als Ursache des Kältetodes in den Vordergrund gestellt haben, so scheinen sie m. E. erst durch die Veränderungen zustande zu kommen, die die Träger des Stoffwechsels, nämlich die Plasmastoffe, bei der Eisbildung erleiden. Stoffwechselstörungen, die sich z. B. daraus ergeben, daß winterfeste Pflanzen in gefrorenem Zustande nicht assimilieren oder kein Wasser aufnehmen können und infolgedessen nach längerer Zeit schließlich an Kohlehydrat- oder Wassermangel zugrunde gehen, müssen hier außer Betracht gelassen werden.

Im Anschluß an die Versuche und Anschauungen von Müller-Thurgau (29) sah man die Todesursache beim Gefrieren allein in der Entwässerung, die das Plasma durch die Eisbildung erfährt und die je nach dem erreichten Grade zu irreversiblen Veränderungen desselben führt. Maximow (25) erweiterte, um gewisse Unstimmigkeiten zu vermeiden, diese Theorie dahin, daß auch der Eisdruck von Bedeutung wäre und mechanisch das Plasma schädigen würde. Was nun den Eisdruck betrifft, so könnte er wohl unter den Versuchsbedingungen Maximow's, der die Gewebe in Lösungen, d. h. in wassergesättigtem Zustande gefrieren ließ, von Bedeutung sein; unter natürlichen Verhältnissen aber dürfte er kaum eine entscheidende Rolle spielen, da die Pflanzen während der Abhärtung einen Wasserverlust erleiden, der sich als eine viel größere Volumenabnahme auswirkt als der Volumenzunahme durch den Übergang

des Wassers in Eis entspricht. Daß aber auch die bis zu einem bestimmten Maße eingetretene Entwässerung nicht irreversibel und letal sein muß. hat Maximow (24) schon selbst bewiesen, als er ohne besondere Vorbehandlung gebliebene Rotkohlschnitte gefrieren und in Gegenwart von Alkohol bzw. Salzlösungen auftauen ließ und dadurch erreichte, daß das bei den gesetzten Temperaturen sonst sicher eintretende Absterben vermieden wurde. Eingehender hat sich mit diesen Verhältnissen Iliin (15) befaßt, der Rotkohlschnitte sogar auf -33 und -80 °C abkühlte und sie durch langsames Auftauen, zum Teil wenigstens, am Leben erhalten konnte. Die Todesursache wäre demnach nicht in dem Wasserentzug an sich, sondern in den während des Auftauens vor sich gehenden Veränderungen zu sehen. Daß die Geschwindigkeit des Auftauens auch unter rein natürlichen Verhältnissen von Einfluß auf den Gefriertod sein kann. wurde bekanntlich schon von Müller-Thurgan (29) und Åkerman (2) an verschiedenen Objekten gezeigt. Nach eigenen Versuchen mit Gerstenpflanzen waren die Temperaturgrenzen, innerhalb derer nach 24stündigem Gefrieren in dieser Richtung ein Einfluß festzustellen war, relativ gering. Von - 15° C an ergab sich zwischen dem Schädigungsgrad nach langsamem und raschem Auftauen kein Unterschied mehr: stets waren die Pflanzen völlig erfroren.

Bei einer zukünftigen Behandlung dieses Problems mittels ähnlicher Methoden, die Maximow und Iliin angewendet haben, wird man folgende Punkte nicht außer acht lassen dürfen. Erstens werden beim Gefrieren und Auftauen in Salz- und Zuckerlösungen die natürlichen Verhältnisse verändert. Es ist sicher, daß Salze und andere Stoffe zum mindesten in die Plasmagrenzschichten eindringen und stabilisierend auf das Kolloidsystem einwirken können. Die Folgerung Maximow's aus seinen Versuchen, daß die Plasmahaut der empfindlichste Plasmateil sei, wird unter diesem Gesichtspunkt erklärlich. Auf der andern Seite können beim Auftanen Peptisierungsvorgänge eine Rolle spielen und z. B. Flockungen rückgängig gemacht werden, die sonst letal wirken würden. Vielleicht ist in diesem Sinne das Ergebnis der Versuche von Zacharowa (49) zu erklären, die mit stark verdünnten NaOH-Lösungen (0.01 - 0.001 n) eine "Schutzwirkung" erzielte. Zweitens ist zu berücksichtigen, daß bei allen diesen direkten Versuchen das Gefrieren nur relativ kurze Zeit dauerte. Es brauchte daher der Wasserentzug aus den Kolloiden die dem Gleichgewicht des Dampfdruckes über Kolloid und Eis entsprechende endgültige Größe noch nicht erreicht zu haben.

Da auf Einzelheiten und strittige Fragen der eben kurz umrissenen Theerie über den Frosttod hier nicht eingegangen werden kann, muß auf die umfassenden Darstellungen von Äkerman (1), Maximow (23) und Wartenberg (44) verwiesen werden.

Wenn auch nach dem Gesagten die Frage nach der eigentlichen Ursache des Frosttodes nicht befriedigend geklärt ist, so ist doch die Richtung gegeben, in der eine Erörterung über die resistenzbedingenden Faktoren fruchtbar erscheint. Was den möglichen Einfluß des osmotischen Wertes, der Wasserstoffionenkonzentration und der Zucker auf die Frostresistenz der verschieden ernährten Pflanzen betrifft, so ist darüber schon in der früheren Arbeit (Schaffnit und Wilhelm, 36) berichtet. An dieser Stelle ist vor allem zu untersuchen, welche Bedeutung den Eiweißstoffen bzw. den Veränderungen des N-Stoffwechsels für die Kältewiderstandsfähigkeit zukommt. Dabei haben wir natürlich zu beachten, daß die jeweilige Frostresistenz eine Resultante aus Einzelwirkungen darstellt und daß die eben genannten Momente, osmotischer Wert usw. gleichzeitig Berücksichtigung finden müssen.

Zunächst ist die Frage aufzuwerfen, auf welche Weise überhaupt die Eiweißstoffe die Frostresistenz beeinflussen können. Wenn es die Eiweißstoffe selbst sind, von deren Veränderung, z. B. Entquellung oder Entladung, beim Gefrieren das Leben der Zellen abhängt, dann dürften quantitative Unterschiede von Pflanze zu Pflanze, gleiche übrige Verhältnisse vorausgesetzt, keine Bedeutung haben: denn ihre Veränderung müßte dann gleichsinnig verlaufen. Sind dagegen die Eiweißstoffe qualitativ verschieden, was nach dem Ergebnis der serologischen Verwandtschaftsforschung bei systematisch verschiedenen Pflanzen als erwiesen anzusehen ist, so kann daraus ohne weiteres eine unterschiedliche Frostresistenz resultieren. Quantitative Analysen, in denen das ganze Eiweiß summarisch erfaßt wird, können aber in diesem Falle keinen Aufschluß bringen. Dieser Auffassung entsprechend hat sich auch zwischen dem Gesamteiweiß und der Frostresistenz sowohl in den Newtonschen (30) als auch unseren eigenen Versuchen keine sichere Beziehung feststellen lassen.

In bezug auf die Versuche mit verschieden ernährten Pflanzen erhebt sich nun die Frage, ob unter veränderten Außenbedingungen die Eiweißstoffe qualitative Veränderungen erleiden oder ob nur eine relative Verschiebung in der Menge bestimmter Eiweißkörper stattfindet. Über den ersten Punkt liegen u. W. keine Angaben vor; dies nachzuweisen gestatten unsere chemischen Methoden noch nicht. Dagegen ist mit mengenmäßigen Verschiebungen mit Bestimmtheit zu rechnen, was besonders durch die Untersuchungen von Schaffnit und Lüdtke (35) bewiesen sein dürfte, wobei allerdings auch immer nur Eiweißgruppen und keine bestimmten chemischen Individuen erfaßt wurden. Bei einer mengenmäßigen Verschiebung sich qualitativ gleichbleibender Eiweißstoffe ergibt sich aber wieder die Tatsache, die schon oben erwähnt ist, daß darin allein kein Grund für eine Resistenzverschiedenheit gegenüber Eisbildung gesehen werden kann.

Ein ganz anderes Bild ergibt sich aber für die Beurteilung der Eiweißstoffe als Resistenzfaktoren, wenn sie nicht für sich allein, sondern in ihrer Wechselwirkung mit den anderen Plasmasubstanzen betrachtet werden. Sie sind in der Zelle einmal Salzeinflüssen unterworfen, dann ist eine Verbindung zwischen ihnen und Lipoiden anzunehmen.

Die Frostresistenzunterschiede der bei abgestuften K-Mengen gewachsenen Pflanzen wurden weiter vorn mit der K-Wirkung auf Quellungsvorgänge erklärt und unabhängig von dem Eiweißgehalt der Pflanzen betrachtet. Dabei wurde angenommen, daß optimale Quellungsverhältnisse dann gegeben sind, wenn die Plasmakolloide, d. h. vorwiegend die Eiweißstoffe, mit einer bestimmten K-Menge in Wechselwirkung treten können. In demselben Sinne wie eine Verringerung der Kalimenge müßte sich demnach eine Vermehrung der Eiweißstoffe bei gegebener absoluter K-Menge auswirken. In Übereinstimmung mit dieser Annahme wurde nun tatsächlich gefunden, daß eine Erhöhung der N-Düngung bei K-Mangelernährung bzw. eine Vermehrung der Eiweißstoffe zu einer größeren Frostempfindlichkeit führte (Tabelle 6).

Bei einer Betrachtung der Eiweißgehalte und der Frostresistenz der N- und P-Ernährungsreihen ergibt sich nun ein sehr unübersichtliches Bild. Denn bei den N- und P-Mangelpflanzen, die relativ wenig Eiweißstoffe gebildet hatten, bei denen aber mit günstigen Salzverhältnissen zu rechnen war und noch dazu verhältnismäßig hohe Zuckerwerte gefunden wurden, ergab sich bei 24stündiger Frosteinwirkung die relativ geringste Widerstandsfähigkeit. Bei mittleren Eiweißwerten war unter diesen Bedingungen die Resistenz am größten, während sie bei höheren wieder abnahm. Ein Grund für dieses Verhalten muß in dem verschiedenen Phosphatidgehalt dieser Pflanzen gesehen werden, der nämlich, wie in der eingangs schon erwähnten Arbeit gezeigt wird, ebenfalls von der Ernährung stark beeinflußt wird und bei P- und N-Mangel sowie N-Überschuß stark reduziert ist.

Was nun die Veränderungen des N-Stoffwechsels bei Abhärtungsund tieferen Temperaturen betrifft, so müssen sie, soweit sie mittels der angewandten Methode erfaßt wurden, als gering und für die Ausprägung der Eigenschaft Frostresistenz als unwesentlich bezeichnet werden. Weder die Veränderungen, die bei den Getreidesorten (Tabelle 13) noch die, welche in Abhängigkeit von der Mineralsalzernährung (Tabelle 16 und 17) festgestellt wurden, lassen zu der Frostresistenz eine Beziehung erkennen. Sie zeigen aber, daß auch bei in gefrorenem Zustande befindlichen Pflanzen ein meßbarer Eiweißstoffwechsel vor sich geht.

Einer besonderen Besprechung ist noch das eigentlich unerwartete Verhalten der verschieden ernährten Pflanzen bei längerer Gefrierdauer zu unterziehen. Wenn wir an der Ansicht festhalten, daß beim Gefrieren winterharter Gewächse die Wasserentziehung aus dem Protoplasma zur irreversiblen Entquellung der Plasmakolloide führt und auf diesem Wege die Zelle zum Absterben gebracht wird, so ist das Verhalten der N- und P-Ernährungsreihen bei kürzer und länger dauernder Kälteeinwirkung nicht verständlich, da erfahrungsgemäß bei Kolloiden eine länger dauernde Entquellung geringeren Grades zu demselben Endzustand führt wie eine kürzer dauernde Wasserentziehung stärkeren Grades. In Übereinstimmung mit dieser Annahme steht das Verhalten der unter beiden Bedingungen geprüften Getreidesorten, bei denen keine Verschiebung der relativen Frostresistenz festzustellen war (Tabelle 10, 11 und 12). Wie nun aus der Tabelle 18 hervorgeht, nimmt die Widerstandsfähigkeit gegen tiefere Temperaturen bei länger dauerndem Gefrieren ausgesetzten Pflanzen von einem bestimmten Zeitpunkt an ab. Es ist also auch bei den verschieden ernährten Pflanzen unter den Bedingungen der Dauerkühlung mit einer Resistenzabnahme zu rechnen. Die Geschwindigkeit dieser Resistenzabnahme braucht nun nicht allein auf rein physikalisch-chemischen Vorgängen zu beruhen, sondern kann durch Stoffwechselprozesse, die zunächst keinen pathologischen Charakter zu haben brauchen, in verschiedenem Maße geändert werden. Da nun ohne Zweifel die Zucker für die Frostresistenz bedeutungsvoll sind, sei es, daß sie osmotisch oder kolloid-chemisch als Schutzstoffe oder wahrscheinlich in beiderlei Hinsicht wirksam sind, und dieselben Stoffe als Atmungsmaterial dienen, so kann in der verschiedenen Geschwindigkeit des Zuckerverbrauchs sehr leicht die Ursache der Verschiebnug der relativen Frostresistenz liegen. Diese Annahme scheint sich zu bewahrheiten, wenn man Tabelle 20 betrachtet. Sie ist im Verfolg anderer

Tabelle 20.

Geschwindigkeit des Zuckerverbrauches in verschieden ernährten, verdunkelten Weizenpflanzen bei — 2° C.

mg Glukose auf 1 g Trockensubstanz.

	0	0					
Ernshrung		März 1932 tationshalle		Vom 23. März bis 4. April 1932 verdunkelt bei — 2 ° C stehend			
m nen ung	Monos. Bios		Summe	Monos.	Bios.	Summe	
n K + K - N + N - P + P -	38,41 31,32 57,88 30,18 54,79 38,12 48,42	67,55 87,11 94,45 68,18 157,1 48,51 171,8	100,96 68,43 152,28 93,31 211,89 81,63 220,22	25,47 25,55 37,96 27,99 58,31 29,89 85,77	25,13 9,52 19,55 22,60 142,04 19,98 115,5	50,60 85,07 57,51 50,59 190,85 49,82 201,27	

Fragestellung im Frühjahr 1932 aufgestellt worden und enthält die in verschieden ernährten und gut abgehärteten Weizenpflanzen enthaltenen Zuckermengen auf Trockengewicht bezogen. Danach nehmen die Zucker verdunkelter und bei — 2°C gehaltener Pflanzen bei N- und P-Mangelernährung ganz erheblich langsamer ab als bei ausreichender Mineralstoff-

versorgung. Es liegt kein Grund vor, daß bei tieferen Temperaturen der Atmungsverlauf, abgesehen von der gehemmten Geschwindigkeit ein anderer sein soll als bei — 2°C. Diese Versuche stellen übrigens ein konkretes Beispiel dafür dar, daß unter bestimmten Bedingungen, in diesem Falle während lange dauernder Frosteinwirkung, auch der Ablauf von Stoffwechselprozessen als ursächliche Erklärung für Resistenzunterschiede herangezogen werden kann.

#### D. Zusammenfassung der Hauptergebnisse.

1. Durch weitergehende Abstufung der Hauptnährstoffe und Verringerung der Grunddüngung konnten die früher gefundenen Unterschiede der Frostresistenz verschieden ernährter Getreidepflanzen noch deutlicher herausgestellt werden.

Die Frostwiderstandsfähigkeit von Raps- und Spinatpflanzen wird durch verschiedene Düngung in derselben Richtung beeinflußt wie die von Gerste, Weizen, Hafer und Roggen.

Für die Frostresistenz der verschieden ernährten Pflanzen ergibt sich folgende Reihenfolge:

a) bei 24 stündiger Einwirkung relativ tiefer Temperaturen:

K-Reihe: K + > K normal > K gering > K - ;

N-Reihe: N gering > N normal > N + >N --;

P-Reihe: P gering > P normal > P + > P - ;

b) bei länger dauernder Einwirkung weniger tiefer Temperaturen:

 $K\text{-Reihe}\colon\thinspace K+>K\ \text{normal}>K\ \text{gering}>K-;$ 

N-Reihe:  $N \longrightarrow N$  gering > N normal > N + ;

P-Reihe:  $P \longrightarrow P$  gering > P normal > P +.

2. Die untersuchten xerophytischen Getreidesorten zeigen eine größere Frostresistenz als die hygrophytischen.

Die relative Kälteresistenz von Getreidesorten ist bei länger dauernder Frosteinwirkung dieselbe wie bei 24 stündigem Gefrieren.

- 3. Zwischen dem Eiweißgehalt und der Frostresistenz besteht weder bei Getreidesorten noch bei verschieden ernährten Pflanzen eine engere Beziehung.
- 4. Bei unter 0° gelegenen Temperaturen werden Eiweißstoffe zu löslichen N-Verbindungen, namentlich zu Aminosäuren abgebaut. Bei etwa 2°C geht der Eiweißabbau bei belichteten und verdunkelten Pflanzen mit etwa gleicher Geschwindigkeit vor sich; bei tieferen Temperaturen (— 5 bis 7°C) verläuft der Eiweißabbau langsamer als bei 2°C. Diese Veränderungen des N-Stoffwechsels sind an sich als gering zu bezeichnen. Sie lassen weder bei Getreidesorten und -arten noch bei den unter verschiedener Mineralsalzernährung gewachsenen Pflanzen eine Beziehung zur Kältewiderstandsfähigkeit erkennen.

- 5. Die günstige Wirkung des Kaliums auf die Frostresistenz kann darauf zurückgeführt werden, daß erstens mit steigenden Kaligaben die Zellsaftkonzentration erhöht wird und daß zweitens Kalium auf Grund seiner spezifischen kolloidchemischen Eigenschaften die Zellkolloide gegenüber Entquellungsvorgängen widerstandsfähiger macht.
- 6. Die unterschiedliche Frostresistenz der bei verschiedenen N- und P-Gaben gewachsenen Pflanzen läßt sich nicht auf Grund der Verschiedenheit der Wasserstoffionenkonzentration, des osmotischen Wertes, des Zuckergehaltes und des N-Gehaltes erklären. In diesen Fällen spielt, wie an anderer Stelle gezeigt wird, der unterschiedliche Phosphatidgehalt der Pflanzen eine ausschlaggebende Rolle.
- 7. Die Veränderung der relativen Frostresistenz der bei abgestuften N- und P-Gaben gewachsenen Pflanzen bei länger anhaltender Kälte gegenüber der bei kurz dauerndem Gefrieren stellt einen Sonderfall dar. Sie kommt dadurch zustande, daß während der Dauerkühlung die Zucker bei den verschiedenen Ernährungsformen mit verschiedener Geschwindigkeit abnehmen. Bei N- und P-Mangel geht nämlich der Zuckerverbrauch viel langsamer vor sich als bei guter N- und P-Ernährung, so daß in letzterem Falle die von den Zuckern ausgeübte Schutzwirkung verhältnismäßig bald ein Minimum erreicht, während sie bei N- und P-Mangel nur unwesentlich abnimmt.

#### Literatur.

- 1 Äkerman, Ä., Studien über den Kältetod und die Kälteresistenz der Pflanzen usw. Lund 1927.
- 2 Åkerman, Å., Über die Bedeutung der Art des Auftauens für die Erhaltung gefrorener Pflanzen. Botaniska Noticer, Jahrgang 1919.
- Bobertag, O., Feist, K. und Fischer, H. W., Über das Ausfrieren von Hydrosolen. Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, Bd. 41/3, 1908.
- 4 Chandler, W. H., The killing of plant tissue by low temperature. Missouri Agric. Exp. Stat. Res. Bull. 8, 1913.
- 5 Constantinescu, E., Die Kältefestigkeit verschiedener Wintergersten. Zeitschrift für Züchtung, A. Bd. 19, 1984.
- 6 Engel, H., Beiträge zur Kenntnis des N-Umsatzes grüner Pflanzen. Planta, Bd. 7, 1929.
- 7 Fischer, H. W., Gefrieren und Erfrieren. Eine physikochemische Studie. Cohns Beiträge zur Biologie der Pflanze, Bd. 10, 1911.
- 8 Gaßner, (f. und Franke, W., Der N-Haushalt junger Weizenpflanzen in seiner Abhängigkeit von der Mineralsalzernährung. Phytopath. Zeitschrift, Bd. 7, 1934.
- 9 Gaßner, G. und Franke, W., Über den Einfluß der Temperatur auf Stickstoffgehalt und Rostresistenz junger Getreidepflanzen. Phytopath. Zeitschrift, Bd. 7, 1934.
- 10 Gaßner, G. und Rabien, H., Über die Durchführung der Frosthärteprüfung von Getreidezuchtstämmen. Der Züchter, Jahrgang 3, 1931.
- 11 Gorke, H., Über chemische Vorgänge beim Erfrieren der Pflanzen. Die Landwirtschaftlichen Versuchsstationen, Bd. 65, 1906.

- 12 Hansteen-Cranner, B., Über das Verhalten der Kulturpflanzen zu den Bodensalzen. I und II. Jahrb. für wissenschaftliche Botanik, Bd. 47, 1910.
- 13 Harvey, R. B., Hardening processes in plants and developments from frost injury. Journ. Agric. Res., Bd. 15, 1918.
- 14 Höber, R., Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 6. Aufl. Leipzig, 1926.
- 15 Iljin, W. S., Über den Kältetod der Pflanzen und seine Ursachen. Protoplasma, Bd. 20, 1933.
- 16 Iljin, W. S., Der Einfluß des Wassermangels auf die CO<sub>3</sub>-Assimilation. Flora, N. F., Bd. 16, 1932.
- 17 Irmscher, E., Über die Resistenz der Laubmoose gegen Austrocknung und Kälte. Jahrb. für wissenschaftliche Botanik, Bd. 50, 1912.
- 18 Kisser, J., Untersuchungen über den Einfluß der Nährsalze auf die Wasserabgabe, Wasseraufnahme, relative Sproß- und Wurzelmasse und die Blattstruktur. I u. II. Planta, Bd. 3, 1927.
- 19 Kúthy, A. von. Über die inneren Strukturänderungen des Eieralbumins bei der Denaturation. Biochemische Zeitschrift, Bd. 259, 1933.
- 20 Lottermoser, A., Über das Ausfrieren von Hydrosolen. Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, Bd. 41/3, 1908.
- 21 Lundegårdh, H., Die Nährstoffaufnahme der Pflanze. Jena, 1932.
- 22 Magistad, O. and Truog, E., The influence of fertilizers in protecting corn against freezing. Journ. Amerc. Soc. of. Agron., Bd. 17, 1925.
- 28 Maximow, N. A., Internal factors of frost and drought resistance in plants Sammelreferat. Protoplasma, Bd. 7, 1929.
- 24 Maximow, N. A., Chemische Schutzmittel gegen das Erfrieren der Pflanzen. I, II und III. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, Bd. 30, 1912.
- 25 Maximow, N. A., Experimentelle und kritische Untersuchungen über das Gefrieren und Erfrieren der Pflanzen. Jahrb. für wissenschaftliche Botanik, Bd. 53, 1914.
- 26 Mothes, K., Ein Beitrag zur Kenntnis des N-Stoffwechsels hüherer Pflanzen. Planta, Bd. 1, 1926.
- 27 Mudra, A., Zur Physiologie der Kälteresistenz des Winterweizens. Planta, Bd. 18, 1932.
- 28 Müller-Thurgau, H., Über Zuckeranhäufung in Pflanzenteilen infolge niederer Temperatur. Landw. Jahrbücher, Bd. 11, 1882.
- 29 Müller-Thurgau, H., Über das Gefrieren und Erfrieren der Pflanzen. Landw. Jahrbücher. Bd. 9, 1880. und Bd. 15, 1886.
- 30 Newton, R., The Nature and Practical Measurement of Frost Resistance in Winter Wheat. Univ. of Alberta Coll. of Agric. Res. Bull., 1, 1924.
- 31 Newton, R. and Brown, W. R., Seasonal Changes in the Composition of Winter Wheat Plants in Relation to Frost Resistance. Journ. of Agric. Science, Bd. 16, 1926.
- 32 Newton, R. and Brown, W. R., Frost Precipitation of Proteins of Plant Juice. Canad. Journal of Res., Bd. 5, 1981.
- 38 Pfeffer, W., Pflanzenphysiologie. Leipzig, 1904.
- 34 Schaffnit, E., Studien über den Einfluß niederer Temperaturen auf die pflanzliche Zelle. Mitteilungen des Kaiser Wilhelm-Instituts Bromberg, Bd. 3, 1910.
- Schaffnit, E. und Lüdtke, M., Beiträge zur Kenntnis von Kältewirkungen auf die pflanzliche Zelle. Phytopath. Zeitschrift, Bd. 4, 1932.
- 36 Schaffnit, E. und Wilhelm, A. F., Kühlversuche mit verschieden ernährten Pflanzen und Untersuchungen über deren Stoffwechselphysiologie. Phytopath. Zeitschrift, Bd. 5, 1983.
- 37 Schmalfuß, K., Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel von Kalimangelpflanzen. Phytopath. Zeitschrift, Bd. 5, 1933.

- 88 Seelhorst, C., Über den Trockensubstanzgehalt junger Weizenpflanzen verschiedener Varietät. Journal für Landwirtschaft, Bd. 58, 1910.
- 39 Sinz, E., Beziehungen zwischen Trockensubstanzgehalt und Winterfestigkeit bei verschiedenen Winterweizenvarietäten. Journal für Landwirtschaft, Bd. 62, 1914.
- 40 Todokoro und Joshimura, J., Fac. of Agric. Sapporo, Bd. 25, 1928, zitiert nach A. v. Kuthy (19).
- 41 Tumanow, J. J. und Borodin, J. N., Untersuchungen über die Kälteresistenz von Winterkulturen durch direktes Gefrieren und indirekte Methoden. Phytopath. Zeitschrift, Bd. 1, 1980.
- 42 Walter, H., Die Hydratur der Pflanze. Jena, 1931.
- 48 Walter, H., Die Bedeutung des Wassersättigungsdefizits auf die CO<sub>2</sub>-Assimilation der Pflanzen. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, Bd. 46, 1928.
- 44 Wartenberg, H., Kälte und Hitze als Todesursache der Pflanze und als Ursache von Pflanzenkrankheiten. In Sorauer: Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. 1, Teil 1, 1933.
- 45 Weevers, Th., Die physiologische Bedeutung des Kaliums in der Pflanze. Biochem. Zeitschrift, Bd. 78, 1917 und Bd. 89, 1918.
- 46 Wilhelm, A. F., Untersuchungen über das Verhalten sogenannter nicht eisbeständiger Pflanzen bei niederen Temperaturen unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses verschiedener Mineralsalzernährung und des N-Stoffwechsels. Phytopath. Zeitschrift, im Druck.
- 47 Wilhelm, A. F., Studien über die Bedeutung der Lipoide, insbesondere der Phosphatide für die Frostresistenz der Pflanzen. Phytopath. Zeitschrift, im Druck.
- 48 Wilhelm, A., F., Experimentelle Untersuchungen über die Kälteresistenz von Reben und Obstgehölzen. Die Gartenbauwissenschaft, Bd. 8, 1933.
- 49 Zacharowa, T. M., Über den Einfluß niedriger Temperaturen auf die Pflanzen. Jahrb. für wissenschaftliche Botanik, Bd. 65, 1926.

# Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des botanischen Instituts der Universität Tartu. (Estland).

# Zur Physiologie der Kartoffel. I.

Uber die Permeabilität des Knollengewebes der vitalen und der abbaukranken Kartoffeln.

Von

#### Hugo Kaho.

Wie die Beobachtungen zeigen, geben bei der Lagerung die Knollen der abbaukranken Kartoffeln durchschnittlich mehr Wasser in Dampfform ab als die Knollen der gesunden Pflanzen. Die Abbauknolle hat ein geringeres Wasserbindungsvermögen als die Vitalknolle (Bechhold und Erbe, 4). Es ist die Meinung ausgesprochen worden, daß die Kolloide der Abbauknolle weniger Wasser zu binden vermögen (Marx und Merkenschlager, 15).

Die Hauptmenge des Wassers in den Knollen stammt aus dem Zellsaft und wird durch osmotische Kräfte der im Zellsaft echt gelösten Stoffe festgehalten. Die Hydratation der Biokolloide des Knollengewebes im Sinne der Wasserbindung spielt eine weit geringere Rolle. Ich möchte damit aber nicht sagen, daß die Hydratation der Plasmakolloide keine physiologische Bedeutung hat (Lepeschkin, 12, Bechhold, 3). Nach meiner Meinung liegt die Ursache der leichteren Wasserabgabe in der veränderten Permeabilität der Abbauknolle. Die Permeabilität des Plasmas der abgebauten Kartoffelknollen ist durchschnittlich größer als die der Vitalknolle. Dieses ist durch folgende Versuche erwiesen.

#### Versuche.

Aus drei kleinen Abbauknollen der Sorte "Bravo" und einer größeren Vitalknolle "Victoria") wurden mit einem Korkbohrer Gewebezylinder ausgestochen und mit einem Handmikrotom in dünne Scheiben (Durchmesser 15 mm, Dicke zirka 1 mm) zerlegt. Nach fünf- bis sechsmaligem Abspülen in destilliertem Wasser wurden je 33 Scheiben in Glas-

<sup>1)</sup> Das Versuchsmaterial stammt aus der estländischen Versuchsstation zu "Jôgeva". Die Abbauknollen "Bravo" und "Imperator" sind aus importiertem Saatgut ausgewählt und werden zu Versuchszwecken kultiviert. "Bravo" stammt aus Holland (import. 1926), "Imperator" aus Deutschland (import. 1925).

Dem Leiter der Versuchsstation zu "Jögeva", Herrn J. Aamissepp, bin ich für sein freundliches Entgegenkommen zu bestem Dank verpflichtet.

schalen in 15 ccm destilliertes Wasser gelegt. Nach 24 Stunden wurde das Wasser abgegossen und 3 ccm 5% ige AgNO<sub>3</sub>-Lösung zugesetzt. Das Wasser, in dem die Scheibehen der Abbauknollen gelegen hatten, zeigte eine milchige Trübung durch Silberchlorid, das sich im Probeglas bald als Niederschlag absetzte. Im Wasser, in welchem die Scheiben der Vitalknolle gelegen hatten, war eine geringere Trübung zu bemerken. Nach Abfiltrieren und Abtrocknen im Trockenschrank wog der Niederschlag bei "Bravo" 62,5 mg, bei "Victoria" 25 mg.

Dieser Vorversuch und eine Reihe ähnlicher Versuche, die ungefähr gleiche Resultate ergaben, zeigen, daß aus den Zellen der Abbauknolle Chloride und andere mit AgNO<sub>3</sub> fällbare Stoffe in größerer Menge in Wasser exosmiert werden als aus dem Gewebe der Vitalknolle.

Um nun feinere Unterschiede der Permeabilität der Knollen kennenzulernen, habe ich die elektrische Leitfähigkeit des Wassers, in welchem die Gewebescheiben (je 20 Stück) gelegen hatten, gemessen. Es wurde jedesmal 10 ccm destilliertes Wasser benutzt, und nach jeder Messung wurde das Wasser gewechselt. Die Leitfähigkeitsmessungen wurden nach Kohlrausch (11) in üblicher Weise mit einer Walzenbrücke (Hartmann und Braun) ausgeführt (vgl. Stiles, 16, Höber, 5).

Das zylindrische Widerstandsgefäß mit einer schmaleren unteren Hälfte hatte einen Mündungsquerschnitt von 4,9 cm²; der Querschnitt der unteren Hälfte betrug 2,2 cm², der Inhalt des Gefäßes zirka 35 ccm und die Normalfüllung zirka 19 ccm. Von den blanken, kreisrunden, horizontal übereinanderliegenden Platinelektroden hatte die untere eine Fläche von 1,1 cm², die obere, durchlöcherte von zirka 1 cm². Der Abstand der Elektroden betrug zirka 5 mm, die Primärspannung des Meßstromes war 3 bis 4 Volt, die Periodenzahl zirka 400 und der innere Widerstand des Telephons zirka 400 Ohm.

Tabelle 1.

Exosmose der Elektrolyte aus dem Knollengewebe 1).

Je 20 Scheiben. Spezifische Leitwerte in Mhos × 10-5.

	Gewicht	Le	eitwerte in	den Stund	en
	der Knollen g	0-3	3-6	6-9	9—12
Deodara (V2)	68	12,4	9,0	6,0	4,4
Odenwälder Blaue (V)	32	8,9	11,1	10,8	8,4
Bravo	30	14,1	11,8	9,8	7,1
Bravo I, Blattkräus	14; 18	47,4	39,8	33,4	25,1
Bravo II, Blattrollkr	13; 18	26,0	19,2	14,2	13,6
Imperator (V)	89; 42	19,2	23,2	19,6	12,4
Imperator, Blattrollkr	17; 21	42,2	37,1	31,2	33,6
Väike verev (V)	21; 20; 18	15,5	11,2	7,7	6,3
Väike verev, Mosaikkr	25	18,0	15,1	11,4	10,2
Hero (V)	47; 55	13,8	12.1	6,6	5,5
Hero Mosaikkr. (?)	23	11,0	10.2	9,1	8,5

Die Daten der Tabelle 1 zeigen uns die Leitwerte nach je drei Stunden. Wenn man die Leitwerte der einzelnen Sorten in Betracht

<sup>1)</sup> Wo nichts anderes vermerkt ist, sind die Versuche mit Knollen angestellt, die von der Ernte bis Ende April auf Lager (Temperatur 4 bis 7° C) gelegen hatten.

<sup>2)</sup> V = Vital.

zieht, so sieht man, daß sie im allgemeinen nach den ersten drei Stunden am größten sind und in den folgenden Zeiträumen allmählich abnehmen. Das erklärt sich durch die Verminderung der Elektrolytenexosmose, da nach jeder Leitfähigkeitsmessung das Wasser gewechselt wurde. Nehmen wir die Leitwerte als relatives Maß für die Exosmose, d. i. für die Permeabilität der Zellen, so sehen wir einen beträchtlichen Unterschied zwischen der Permeabilität der vitalen und der abbaukranken Knollen. Die Leitwerte sind durchschnittlich bei den Abbauknollen größer, und zwar:

Bei Hero sind die Leitwerte vital-abbaukrank fast gleich 1).

Die Exosmose der Elektrolyte aus den Knollenzellen zeigt, daß die Permeabilität des Protoplasmas der Abbauknollen größer ist als die der Vitalknollen.

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Messungen bei der Exosmose nach einstündigen Zeitabschnitten dargestellt.

Tabelle 2.

Exosmose der Elektrolyte aus dem Knollengewebe.

Je 20 Knollenscheiben. Spezifische Leitwerte in Mhos × 10-5.

	Gewicht	Leitwerte in den Stunden						
Kartoffelsorte	der Knollen g	0—1	1—2	2-3	3—4	45	5—10	
Bravo (V)	29; 35 5; 7,5; 6,5 20,5; 19 37,5; 21,5	7,7 10,0 12,5 15,3	6,0 8,1 6,6 10,1	3,8 6,7 6,7 7,3	2,9 6,0 5,3 5,9	2,7 7,0 5,8 5,7	18,5 19,5 14,8 19,6	

Nach einstündigen Zeitintervallen ist die Menge der exosmierten Elektrolyte, wie die Leitwerte zeigen, geringer. Man sieht aber einen deutlichen Unterschied zwischen den Vital- und Abbauknollen. Bei den letzten sind auch unter diesen Versuchsbedingungen die Leitwerte größer:

					***************************************		1 bis 5 Stunden	5	bis 10 Stunden
Bei "Bravo" (Abbau) Bei "Väike verev" (Abbau)	:		:	:	:		1,65 mal größer 1,25 mal größer	1	,6 mal größer ,8 mal größer

Die Abbauknollen weisen also deutlich eine größere Permeabilität des Plasmas auf.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>) Bei dieser Sorte, die mir als mosaikkrank aus der Versuchsstation zugestellt wurde, zeigten sich beim Schneiden im Knollengewebe kleine rostähnliche Flecken, die auf eine Infektion hinwiesen.

Es erhob sich nun noch die Frage, inwiefern die Durchlässigkeit für Elektrolyte bei den Knollenzellen durch die Lagerung beeinflußt wird. Zu diesem Zweck wurden für die Versuche soeben ausgegrabene Knollen verwendet (Anfang Oktober 1934).

Tabelle 3. Exosmose der Elektrolyte aus dem Gewebe frisch ausgegrabener Knollen. Je 20 Scheiben. Spezifische Leitwerte in Mhos $\times$ 10-5.

	Gewicht	l	Leitwerte in den Stunden							
	der Knollen g	0-1	1—2	2-3	3—4	4-5	5—15			
Reichskanzler (V) 1) Reichskanzler, Mosaikkr Early rose (V) Early rose, Blattrollkr Väike verev (V) Väike verev, Mosaikkr	52 60 41 49 45 23	17,5 23,2 11,6 20,6 18,1 20,1	9,7 12,1 4,5 8,5 8,5 9,6	6,4 8,6 3,8 4,4 5,5 7,7	5,3 6,1 2,8 4,9 4,2 5,8	5,1 6,0 3,7 3,9 3,9 5,0	24,5 79,0 21,0*) 27,4 18,9 28,6			

<sup>1)</sup> V = Vital.

Die frisch ausgegrabenen Knollen zeigen etwas größere Leitwerte (= größere Permeabilität) als die gelagerten Knollen. Ich bin geneigt anzunehmen, daß während der Lagerung die Permeabilität der Knollenzellen etwas herabgesetzt wird. Die Zahl der Versuche ist leider zu gering, um dieses einwandfrei behaupten zu können.

Die frisch ausgegrabenen Abbauknollen zeigen 1,3 bis 2,6 mal größere Leitwerte als die gesunden.

Alle hier angeführten Versuche haben gezeigt, daß bei den Abbauknollen eine größere Permeabilität für Elektrolyte besteht. Die Folge davon ist, daß der osmotische Wert des Zellsaftes der abbaukranken Knollen im allgemeinen kleiner ist, da bei einer größeren Durchlässigkeit des Knollenprotoplasmas osmotisch wirkende Stoffe aus den Zellen leichter abgegeben werden. Den kleineren osmotischen Wert der Abbauknollen zeigen folgende Versuche.

Es wurden aus den mittleren Teilen des Knollenfleisches mit einem Handmikrotom genau vierkantige prismatische Gewebestreifen (etwa 3 cm lang), mit der Kantenbreite von zirka 1 mm ausgeschnitten und die Kontraktion (Verkürzung der Länge) in einer hypertonischen Lösung und die nachherige Ausdehnung in Leitungswasser unter dem Mikroskop gemessen (vgl. Gewebespannungsmethode Lundegårdh, 13, Kaho, 8). Die Beobachtungen wurden mit dem Kompensationsokular 6 mit Stufenmikrometer (Reichert) bzw. mit dem Mikrometerokular II und den Objektiven 60 bzw. 0 ausgeführt.

Die Länge der Gewebeprismen betrug ungefähr 6 bis 8 mm. Die Gewebestreifen wurden mit sehr dünnen, gebrannten Nadeln an einem Ende auf einem Paraffinblock in

<sup>2) 5</sup> bis 11 Stunden.

der Petrischale befestigt. Als Beobachtungsmarken dienten zwei gebrannte Nadelspitzen, die seitlich in den mittleren Teil der Streifen hineingestochen wurden. Nach Messung der Länge zwischen den Marken in destilliertem Wasser wurde das Wasser durch 0,55 mol. Saccharose bzw. 0,28 mol. Ca(NO<sub>8</sub>)<sub>3</sub>-Lösung ersetzt. In schwächeren Lösungen war die Kontraktion der Gewebestreifen nicht so regelmäßig.

Nach Ablauf einer gewissen Zeit (siehe Tabellen 4 und 5) trat die maximale Verkürzung der Streifen ein. Es wurden die Lösungen abgegossen und die Schalen mit Leitungswasser gefüllt. Die Gewebestreifen begannen sich wieder auszudehnen. Für die beschriebenen Versuche, wie auch für verschiedene Plasmolyseversuche (insbesondere für die Deplasmolyse, bzw. für die Wiederausdehnung der Gewebestreifen) eignet sich besser Leitungswasser als weniger schädlich im Vergleich zu destilliertem Wasser [Karzel (9), Kemmer (10), Bärlund (2), Albach (1)].

Tabe	lle 4.					
"Bravo" (Abbau)	"Victoria" (vital)					
142   115   150   120   145   147 Verkürzung der Länge in 0,55 mol. Sac	ebestreifen in Mikrometerteilen   136   110   138   116   155   136   charose nach zwei Stunden in Prozenten   5,7   7,8   5,8   6,0   7,1   7,4					
Mittel: 9,7 °/o	Mittel: 6,6 %					
	sser bis zur ursprünglichen Länge Minuten)   8   9,5   20   10,5   17   16					
Mittel: 16,1 Minuten	Mittel: 13,6 Minuten					

Die Ergebnisse der Gewebespannungsversuche (Tabelle 4) zeigen, daß die Kontraktion des Knollenfleisches in 0,55 mol. Saccharose im Mittel aller Versuche bei den Abbauknollen viel größer ist (9,7 %), als bei den Vitalknollen (6,6 %). Dieses hängt von der osmotischen Gegenleistung der Knollenzellen ab. Die osmotischen Werte des Zellsaftes der abbaukranken Knollen sind kleiner als die der Vitalknollen. Bei den Vitalknollen wird in der 0,55 mol. Saccharose-Lösung der grenzplasmolytische Wert noch nicht oder nur bei einzelnen Zellen erreicht, bei den Abbauknollen dagegen schon etwas überschritten. Wenn wir nach der Größe der Gewebekontraktion über den osmotischen Wert der Knollen urteilen würden (ohne auf die Brauchbarkeit dieser Methode einzugehen), so würde sich ergeben, daß der osmotische Wert der Vitalknollen ungefähr um 30 % größer ist.

Da die Kontraktion der Gewebestreifen der Abbauknollen in hypertonischer Lösung größer als die der Vitalknollen war, so müßte man auch erwarten, daß bei der Übertragung in Wasser die Wiederausdehnung

länger dauern würde. Im Mittel dauerte die Wiederausdehnung bei den Abbauknollen 16,1 Minuten gegen 13,6 Minuten bei den Vitalknollen. Berechnet man nun nach der Ausdehnungsgeschwindigkeit der Vitalknollen-Streifen die Ausdehnungszeit der Abbauknollen-Streifen, so bekommt man statt der beobachteten 16,1 Minuten eine Dauer von 20,1 Minuten, d. h. das Wasser dringt in die Zellen der Abbauknollen ungefähr um 25 % schneller ein. Die Permeabilität für Wasser ist bei den Abbauknollen größer als bei den Vitalknollen (vgl. auch Huber und Höfler, 6).

Wenn wir statt des Rohrzuckers, der sehr langsam in die Zellen permeiert, ein schwereindringendes Salz nehmen, so bleiben die Verhältnisse etwa dieselben.

				"L	mperator	ш				
		Abbau						Vital		
	Urs	prünglic	he Län	ge der G	ewebesti	eifen in	Mikro	metertei	ilen	
143		133	1	127	1	136		145	1	140
Verki	rzung	der Lä	nge in	0,28 mol	. Ca(NO	). nach	15 Mi	nuten in	Proz	enten
				-,						
10,5		9,0	- 1	8,0	1	7,4		6,2	1	7,1
10,5	Mit	9,0 ttel: 9,2	<u>'</u> / <sub>0</sub>	8,0	- -	7,4	Mi	6,2 ttel: 6,9	°/ <sub>0</sub>	7,1
		ttel: 9,2		Leitungs	wasser b	is zur u		ttel: 6,9	. •	

Die Daten der Tabelle 5 zeigen uns, daß in 0.28 mol  $\mathrm{Ca(NO_3)_2}$ -Lösung die Größe der Gewebekontraktion ungefähr dieselbe ist, wie in der Zuckerlösung.

The state of the s	 	 				•	Größe der Ko	ontraktion in
			,				Ca(NO <sub>8</sub> ) <sub>2</sub>	Saccharose
Abbauknolle Vitalknolle	:			:	•		9,2 6,9	9,7 6, <b>6</b>

Die Wiederausdehnung der Gewebestreifen in Wasser geht nach Behandlung mit Kalziumnitrat dagegen viel schneller vor sich, wie die folgende Gegenüberstellung zeigt.

		•		Wiederausdehnungszeit in Wasser (Minuten) nach Vorbehandlung mit				
				 		Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	Saccharose	
Abbauknolle Vitalknolle		•	:			8,2 5,8	16,1 18,6	

Die Ursache der schnelleren Wiederausdehnung der Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-Streifen in Wasser liegt wohl darin, daß Nitrate die Permeabilität der Zellen stark erhöhen (Kaho 7, Lundegärdh 14). Es ist auch möglich, daß schon bei der Kontraktion in der Kalziumnitratlösung aus den Zellen der Abbauknollen infolge der größeren Durchlässigkeit die Exosmose osmotisch wirkender Stoffe begünstigt wird.

Ich habe in dieser kurzen Mitteilung einige Beispiele aus meinen Versuchen über die Permeabilität des Protoplasmas verschiedener Kartoffelknollen vorgeführt. Wenn ich nun zusammenfassend alle Ergebnisse meiner Versuche betrachte, so kann ich sagen, daß sie ziemlich einheitlich eine größere Durchlässigkeit des Plasmas der abbaukranken Knollen beweisen. Es kommen wohl bisweilen Fälle vor, wo aus unbekannten Gründen die Permeabilität der Abbauknollen für Elektrolyte nicht größer ist als die der betreffenden Kontrollexemplare. Diese Ausnahmen können aber die allgemeine Regel nicht wesentlich einschränken.

Im allgemeinen ist die Durchlässigkeit des Knollengewebes bei verschiedenen Sorten ziemlich verschieden, und ich behalte es mir vor, in einer weiteren Mitteilung über die Schwankungsgröße der Permeabilität bei verschiedenen Sorten zu berichten. Den erwähnten Permeabilitätsschwankungen Rechnung tragend, ist es nur dann möglich, bei den abbaukranken Knollen eine größere Durchlässigkeit sicher nachzuweisen, wenn man parallel die kranken und die gesunden Knollen derselben Sorte untersucht.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß das kleinere Wasserbindungsvermögen der Abbauknollen hauptsächlich durch die größere Permeabilität des Protoplasmas der Knollenzellen für osmotisch wirkende Stoffe und für Wasser bedingt ist.

### Kurze Zusammenfassung.

Es wurde die Permeabilität des Protoplasmas abbaukranker und gesunder Kartoffelknollen untersucht. Es wurden aus den Knollen ausgeschnittene Gewebescheiben in destilliertes Wasser gelegt und nach einiger Zeit die Exosmose der Elektrolyte durch die elektrische Leitfähigkeit gemessen. Diese Messungen zeigten, daß die Exosmose der Elektrolyte bei Abbauknollen in der Regel größer ist als bei gesunden. Es wurde ferner mit der Gewebespannungsmethode (= Kontraktion von Gewebestreifen in einer hypertonischen Lösung) gezeigt, daß die Zellen der abbaukranken Knollen kleinere osmotische Werte haben als die der Vitalknollen. Das Verhalten der Gewebestreifen bei der Wiederausdehnung im Wasser läßt den Schluß ziehen, daß die Zellen der Abbauknollen eine größere Permeabilität für Wasser haben.

#### Literatur.

- 1 Albach, W., 1930, Über die schädigende Wirkung der Plasmolyse und Deplasmolyse. Protoplasma, 12.
- 2 Bärlund, H., 1929, Permeabilitätsstudien an Epidermiszellen von Rhoeo discolor. Acta Botanica Fennica, 5.
- 3 Bechhold, H., 1929, Die Kolloide in Biologie und Medizin. Dresden.
- 4 Bechhold, H. and Erbe, F., 1932, Zur Biologie der Kartoffel. XIV. Mitteilung. Arb. d. B. R. A., 20.
- 5 Höber, R., 1926, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig.
- 6 Huber, B. und Höfler, R., 1930, Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, 73.
- 7 Kaho, H., 1921, Ein Beitrag zur Permeabilität des Pflanzenplasmas für Neutralsalze. Biochemische Zeitschrift, 128.
- 8 Kaho, H., 1923, Über die physiologische Wirkung der Neutralsalze auf das Protoplasma. Acta et Comm. Universitatis Tartuensis, A V 4.
- 9 Karzel, R., 1926, Über die Nachwirkung der Plasmolyse. Protoplasma, 12.
- 10 Kemmer, E., 1928, Beobachtungen über die Lebensdauer isolierter Epidermen. Archiv für exp. Zellforsch., 7.
- 11 Kohlrausch, F., Praktische Physik. 1921.
- 12 Lepeschkin, W. W., 1924, Kolloidchemie des Protoplasmas. Berlin.
- 13 Lundegärdh, H., 1911, Über die Permeabilität der Wurzelspitzen von Vicia Faba etc. Svenska Vetenkaps akad. Handl. 47, 3.
- 14 Lundegårdh, H., 1932, Die Nährstoffaufnahme der Pflanze. Jena.
- 15 Marx, Th. und Merkenschlager, F., 1932, Zur Biologie der Kartoffel. XII. Mitt. Arb. d. B. R. A., 19.
- 16 Stiles, W., 1924, Permeability. New Phytologist, 13.

# Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der University Farm, St. Paul, Minn. U. S. A.

Leiter: Prof. Dr. E. C. Stakman.

# Untersuchungen über die Physiologie von Sphacelotheca sorghi, den gedeckten Körnerbrand von Sorghum.

Von

K. Isenbeck, Halle a. d. S. 1)

Mit 5 Textabbildungen.

Die früheren Arbeiten über Sphacelotheca sorghi, den Körnerbrand der Sorghumhirse, beschäftigen sich in erster Linie mit der physiologischen Spezialisierung dieses Pilzes. Tis dale, Melchers und Clemmer (20) gelang es, drei physiologische Rassen von Sphacelotheca sorghi nachzuweisen, die sie als "common, milo und feterita" Rassen bezeichneten. Diese Rassen ließen sich auf Grund ihres pathogenen Verhaltens auf den drei verschiedenen Sorghumarten einwandfrei unterscheiden. Ficke und Johnston (8) berichten, daß diese drei physiologischen Rassen auch in ihrem Wuchsbild auf künstlichen Nährböden bemerkenswerte Unterschiede zeigen. Sie unterscheiden sich in Farbe, Oberflächenbildung, Konsistenz, Randbildung und Wuchsgeschwindigkeit. In Form von Sektoren auftretende Abänderungen wurden gelegentlich in Chlamydosporkulturen, dagegen nie in Monosporidialkulturen beobachtet. Die Verfasser weisen nachdrücklich darauf hin, daß in der weitaus größten Anzahl der Fälle die Kultureigenschaften außerordentlich konstant sind.

Der nächste Schritt in den Untersuchungen über die physiologische Spezialisierung von Sphacelotheca sorghi sollte nunmehr sein, in die Gesetzmäßigkeiten einzudringen, unter denen die Neubildung physiologischer Rassen vor sich geht. Wir wissen, daß die Entstehung neuer Formen mit der Kombination verschiedengeschlechtlicher Linien eines Pilzes in enger Beziehung steht. Kniep und seine Mitarbeiter arbeiteten die grundlegenden Fragen der genetischen Verhältnisse bei den Pilzen aus. Diese Arbeiten ermöglichten es dem Pflanzenpathologen, sein Werk auf genetischer Basis fortzuführen. Christensen (3), Dickinson (4, 7), Hanna (10), Holton (11) und Nicolaisen (15) brachten bereits Klarheit in die geschlechtlichen Verhältnisse bei den Branden von Mais und Hafer.

<sup>&#</sup>x27;) Verfasser ist Herrn Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul, Minn. und Prof. Dr. Th. Roemer zu größtem Dank verpflichtet, da sie den Assistentenaustausch ermöglichten. Sein besonderer Dank gebührt fernerhin Dr. J. J. Christensen für bereitwillige Hilfe und Unterstützung während der Durchführung der Arbeit.

166 K. Isenbeck:

Mittlerweile veröffentlichte Rodenhiser (16, 17) sehr interessante Ergebnisse seiner Arbeiten über die Genetik der Körnerbrande von Sorghum, Sphacelotheca sorghi und Sphacelotheca cruenta und die Art der Vererbung verschiedener Eigenschaften in Kreuzungen zwischen verschiedenen physiologischen Rassen von Sphacelotheca sorghi und solchen zwischen Sphacelotheca sorghi und Sphacelotheca cruenta.

Die vorliegende Arbeit, die auf Anregung von Prof. Dr. E. C. Stakman — University Farm St. Paul, Minn. — im Herbst 1930 begonnen wurde, beschränkt sich nun nicht allein auf die Erforschung der geschlechtlichen Verhältnisse bei Sphacelotheca sorghi, sondern ist auch auf die Klärung methodischer Fragen, wie Einfluß der Temperatur auf den Befall, sowie das Studium von Kultureigenschaften und ihre Vererbung gerichtet. Die groß angelegten Versuche über Befallsvermögen verschiedener Kombinationen von Monosporidiallinien, die an einem umfangreichen Feldmaterial ausgeführt wurden, mißlangen wegen extrem ungünstiger Wetterverhältnisse im Sommer 1931 (Hitzewelle U. S. A. Juni-Juli).

#### Material.

In allen Untersuchungen dieser Arbeit wurden nur monosporidiale Linien von Sphacelotheca sorghi benutzt. Die Art der Keimung in Sphacelotheca sorghi ähnelt in weitgehendem Maße der von Ustilago zeae und Ustilago avenae. Bei der Keimung einer Brandspore wird ein normalerweise vierzelliges Promyzelium gebildet. Von jeder Zelle sproßt ein Sporidium ab; werden diese abgenommen oder fallen sie von selber ab, werden weitere Sporidien gebildet.

Um einzelne monosporidiale Linien zu erhalten, läßt man Chlamydosporen von Sphacelotheca sorghi in hängenden Tropfen von Kartoffel-Dextrose-Agar keimen. Die Keimung geht bei Sphacelotheca sorghi ohne irgendwelche Schwierigkeiten vor sich. Sämtliche benutzten Herkünfte benötigten nur etwa 18 bis 20 Stunden, um zur Sporidienbildung zu gelangen. Die vier Sporidien werden von der Spitze abwärts mit 1, 2, 3 und 4 bezeichnet. Die Sporidien wurden entweder mit dem Hannaschen Isolierapparat (Hanna, 9) oder dem von Dickinson (4) beschriebenen Mikromanipulator abgenommen. Nach einiger Übung hält es nicht schwer, bei geeigneter Konsistenz des Nährbodens sämtliche vier Sporidien in kurzer Zeit zu isolieren. Die Sporidien werden dann auf Deckgläschen mit KDA.-Tropfen übertragen und nach einigen Tagen, wenn sie weiter gewachsen sind, in Reagenzgläser gebracht. Zur Beobachtung des Verhaltens auf künstlichen Nährböden wurden die monosporidialen Linien in 250 ccm Erlenmeyerkolben in dreifacher Wiederholung herangezogen.

Es standen folgende Herkünfte von Sphacelotheca sorghi zur Verfügung: Kalifornien, Oklahoma, Texas und U. Farm St. Paul. Außer diesem Material, das auf Sorghum gewachsen war, wurde eine Form benutzt, die

im Versuchsgarten von St. Paul auf Sudangras gefunden wurde. Bei der Bezeichnung der monosporidialen Linien dieser Herkünfte wurde folgendermaßen verfahren: bei  $C_{4-1-1}$  bedeutet C die Herkunft Californien, 4 die Nummer des Brandkorns, 1 die Nummer der Spore, 1 das Sporidium an der Spitze des Promycels.

Die Infektionsmethode wird im experimentellen Teil besprochen.

#### Versuche.

#### 1. Einfluß der Temperatur auf den Befall.

Zur Bestimmung der günstigsten Temperatur für Keimlingsinfektion wurde folgender Versuch angestellt: Saatgut von Minn. Amber, das vorher mit Formalinlösung gebeizt war, wurde mit einer wässrigen Mischung von zehn monosporidialen Linien von Sphacelotheca sorahi infiziert. Es war notwendig, eine Mischung aus einer größeren Anzahl von monosporidialen Linien zu verwenden, da um die Zeit, als dieser Versuch angesetzt wurde, eine Analyse über die geschlechtliche Zugehörigkeit der verschiedenen Linien noch nicht durchgeführt worden war. Die Mischung wurde in Petrischalen angesetzt. Nachdem die Kulturen ungefähr 24 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatten, wurden sie unter Zusatz einiger Tropfen Wasser mittels einer Infektionsnadel aufgerührt und das Saatgut mit dieser Emulsion gründlich vermischt. Das so infizierte Saatgut wurde in Tontöpfen ausgelegt, die auf die verschiedenen Kammern einer genau kontrollierbaren Temperaturanlage verteilt wurden. Zwei Töpfe mit infiziertem und ein Topf mit uninfiziertem Saatgut - jeder Topf mit ungefähr 50 Körnern — wurden in jede Kammer gebracht. Es kamen folgende Temperaturen zur Bearbeitung: 10, 15, 20, 25, 30 und 35°C.

Es gab einige Schwankungen in der Temperatur, doch blieb der Abstand zwischen den einzelnen Temperaturreihen ziemlich gut gewahrt.

Der Versuch wurde angesetzt am 6. Januar 1931. Die Versuchsreihen, die bei 25, 30 und 35 °C gehalten wurden, wurden am 14. Januar aus den Temperaturkammern herausgenommen und in größere Töpfe umgepflanzt. Das Gleiche geschah mit den Pflanzen bei 15 und 20 °C am 20. Januar. Da um diese Zeit die Serie von 10 °C noch kaum Spitzen der Pflanzen zeigte, wurde die Temperatur allmählich erhöht, und zwar vom 18. bis 22. Januar auf 15 °C, von da ab auf 20 °C. Am 5. Februar wurde auch diese Serie umgepflanzt. Sämtliches Material wurde nunmehr einheitlich unter Gewächshausbedingungen unter Zusatz von künstlichem Licht herangezogen. Die erste Bonitierung erfolgte am 16. Mai, die zweite am 25. Mai und die letzte am 18. Juni 1931.

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 1 ersichtlich. Es geht daraus hervor, daß eine Temperatur von etwa 25 °C für die Keimlingsinfektion bei Sphacelotheca sorghi am günstigsten ist. Der plötzliche Abfall im Befall. prozent der 30 °C-Serie ist wenigstens zum Teil auf das vorzeitige Ab-

sterben vieler Pflanzen — nur 22 Pflanzen gelangten zum Schossen — zurückzuführen, die möglicherweise befallen waren. Die Temperatur von 25°C wurde dann für alle weiteren Infektionsversuche angewandt.

Tabelle 1. Einfluß der Infektionstemperatur auf den Befall mit Sphacelotheca sorghi.

Temperatur	Nummer	16. Ma Anzahl de		26. Ma Anzahl d	i 1931 er Halme		ni 1931 r Pflanzen	Gesamt- zahl der	Be- fall
Temp	Nummer	gesund	krank	gesund	krank	gesund	krank	infizierten Pflanzen	
100	a b Kontrolle	4 1 —	0 0	12 2 2	3 1 —	14 10 4	5 1 —	30	20,0
15°	a b Kontrolle	3 2 3	<u>2</u> 	4 2 3	3 3 —	6 13 7	8 5 —	32	40,6
20 0	a b Kontrolle	3 2 3	1 	10 2 5	2 1 —	15 7 12	6 7 —	35 <sup>1</sup>	37,1
250	a h Kontrolle	3 1 —	8 1 	6 6 3	5 3 —	11 10 6	14 12 —	47	55,8
30 0	n b Kontrolle	1 1	=	7 4 2	=	12 8 5	1 1 -	75	9,0
350	a b Kontrolle	3 5 1	1 3 -	10 7 4	1 4 —	16 13 3	5 5 —	89	25,6

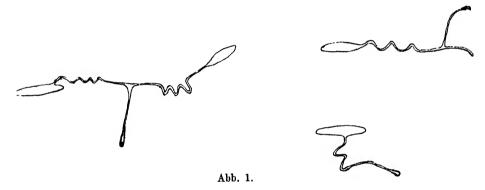
#### 2. Untersuchungen über Sexualität (in künstlicher Kultur).

Eins der wichtigsten Hilfsmittel zur Erkennung der geschlechtlichen Zugehörigkeit monosporidialer Linien bei den Brandpilzen ist die Erscheinung, daß es bei einigen Branden gelingt, auf künstlichen Nährböden Fusionen zwischen verschiedengeschlechtlichen Linien zu erzielen. Es wird vielleicht möglich sein, bei Herstellung geeigneter Umweltbedingungen, diese Fusionen bei sämtlichen heterothallischen Pilzen, die auf künstlichem Nährboden zu ziehen sind, bereits hier nachzuweisen. Vorläufig müssen wir sagen, daß einige Pilze dieser Bestimmung noch erhebliche Schwierigkeiten bereiten. Sphacelotheca sorghi scheint ebenso wie früher Ustilago zeae zu dieser Gruppe zu gehören. Vorversuche wiesen bereits darauf hin, daß es wohl möglich ist, gelegentliche Fusionen zu beobachten, daß diese aber nur in außerordentlich geringer Anzahl auftreten.

Verfasser versuchte daher, durch Variation verschiedenster Umweltfaktoren die Anzahl der Fusionen zu erhöhen. Temperaturserien, die mit je 5° Abstand den Bereich von 10 bis 30° umfaßten, wurden angesetzt,

die Konsistenz und die Wasserstoffionenkonzentration sowie die chemische Zusammensetzung des Nährbodens variiert. Neben Kartoffel-Dextrose-Agar wurde auch nährstofffreier Agar und H<sub>2</sub>O verwendet. Alle Bemühungen blieben erfolglos, es war nicht möglich, mehr als eine gelegentliche Fusion in all den verschiedenen Versuchsserien zu erhalten.

Einige andere interessante Beobachtungen, die unzweifelhafte Anzeichen für sexuelle Reaktion darstellen, können jedoch in diesem Zusammenhang mitgeteilt werden. Sphacelotheca sorghi wächst außerordentlich leicht und rasch auf künstlichem Nährboden, und bereits wenige Stunden, nachdem Sporidien von zwei verschiedengeschlechtlichen monosporidialen Linien gemischt waren, machten sich solche Reaktionen zwischen den Keimschläuchen keimender Sporidien bemerkbar. In diesen Fällen zeigten die Keimschläuche kein gerades Wachstum, sondern waren gedreht und gewunden, in der Art wie es folgende Abbildung zeigt.



In der weitaus größten Anzahl der Fälle kam es nicht zur Fusion; nur gelegentlich war zu beobachten, daß zwei solche Partner sich fanden, wie es auf der linken Seite der Abb. 1 zu sehen ist. Die Tatsache, daß diese Erscheinung nur in solchen Kombinationen auftrat, wo die Verschiedengeschlechtigkeit der beiden Linien durch später durchgeführte Infektionsversuche erwiesen wurde, scheint uns ein genügender Beweis zu sein, daß es sich hier tatsächlich um sexuelle Reaktionen handelte.

Nach 24 Stunden waren gewöhnlich so viele Keimschläuche und Hyphen gebildet, daß es unmöglich war, festzustellen, ob sie auf tatsächlich stattgefundene Fusionen zurückgingen. In einigen Fällen schien es, als wenn mehrere Sporidien — drei bis vier — miteinander verschmolzen wären. Pathogene Kombinationen konnten leicht an der Bildung einer großen Anzahl von Lufthyphen erkannt werden, die bei Monosporidialkulturen oder nicht-pathogenen Kombinationen (d. h. gleichgeschlechtlich) nicht vorhanden waren. Einige wenige monosporidiale Linien zeichneten sich dadurch aus, daß auch hier Lufthyphen gebildet wurden, doch nie in so großer Anzahl wie bei den pathogenen Kombinationen.

170 K. Isenbeck:

Eine Anzahl von monosporidialen Linien wurde der folgenden Prüfung unterworfen, wie sie zuerst von Bauch (1) angewandt wurde: In der Mitte einer Petrischale, die nährstoffreien Agar enthält, werden die vier von einem Promycel stammenden Sporidien in kleinen kreisförmigen Kulturen angeordnet. Rundherum liegen die sechs möglichen Kombinationen der vier Sporidien. Durch diese Anordnung ist die gleichzeitige Beobachtung mehrerer monosporidialer Linien, sowie aller möglichen Kombinationen in einer einzigen Petrischale ermöglicht worden. Nach zwei Tagen zeigten sich innerhalb der Kombinationen deutliche Unterschiede. Einige Kolonien waren vollkommen weiß und häutig geworden, während alle andern mehr oder weniger unverändert das ursprüngliche Bild beibehalten hatten. Bei mikroskopischer Beobachtung war festzustellen, daß das weiße Aussehen von der starken Bildung von Luftmyzel herrührte. Ähnliches wurde auch in Kombinationen beobachtet, die für Infektionszwecke durchgeführt wurden. Auch

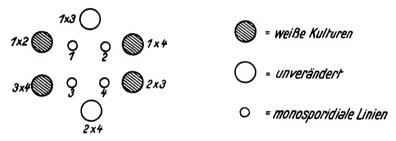


Abb. 2.

hier gelang der Nachweis, daß die weißen Kulturen die Kombinationen verschiedengeschlechtiger Linien darstellten. Bei der Infektion mit solchen Kulturen trat stets Befall ein. Die weiße Farbe schwankte in den verschiedenen Kombinationen sehr stark in der Intensität; jedoch war kein Zusammenhang zwischen Farbintensität und der Höhe des Befalls festzustellen.

#### 3. Infektionsexperimente. (Gewächshaus)

Das Infektionsexperiment ist demnach bei Spacelotheca sorghi das bisher einzige Mittel, um zu schlüssigen Ergebnissen über die sexuellen Verhältnisse innerhalb dieses Pilzes zu gelangen. Nur das aus der Kombination verschiedengeschlechtiger Linien stammende bikaryotische Myzel vermag in der Sorghumpflanze Befall hervorzurufen, so daß wir umgekehrt aus geglückter Infektion auf Verschiedengeschlechtigkeit schließen können. Bei der Deutung von Infektionsergebnissen für die sexuellen Verhältnisse ist es notwendig, darauf hinzuweisen, daß neben den Geschlechtsfaktoren, die die Infektion ermöglichen, auch Anfälligkeits- bzw. Resistenzfaktoren der Pflanze am Zustandekommen dieses Ergebnisses beteiligt sind. Es kann daher aus einem schwachen Befall nicht ohne weiteres auf schwache geschlechtliche Reaktion einer bestimmten Kombination geschlossen werden.

Die Arbeiten von Bauch (1) und Christensen (2, 3) ergaben für verschiedene Brande die Erscheinung der sogenannten "multipolaren Sexualität", d. h. das Vorhandensein einer Mehrzahl von geschlechtlichen Gruppen, bei *Ustilago zeae* z. B. mehr als 25. Um die bei *Sphacelotheca sorghi* vorhandenen geschlechtlichen Gruppen zu bestimmen, wurde folgender Infektionsversuch angesetzt.

Zwei Herkünfte, Kalifornien und U. Farm, St. Paul, lieferten die für diesen Versuch zur Verwendung kommenden monosporidialen Linien. Aus der Kalifornien-Herkunft standen zwei vollständige Sporidiensätze (d. h. sämtliche vier Sporidien eines Promyzels) zur Verfügung; im zweiten Satz waren fünf Sporidien vorhanden, wobei Sporidium Nr. 5 vom selben Segment wie Nr. 1 stammte. Innerhalb jeden Satzes wurden alle möglichen Kombinationen vorgenommen. Aus der Herkunft St. Paul waren zur Zeit des Versuchsbeginns keine vollständigen Sporidiensätze vorhanden; er wurden daher nur Linien von verschiedenen Promyzelien miteinander kombiniert. Außerdem wurden einige Linien aus der Herkunft Kalifornien mit solchen aus der Herkunft St. Paul gekreuzt.

Die Infektion vollzog sich folgendermaßen: Das Infektionsmaterial wurde in Petrischalen auf KDA.-Nährboden herangezogen; nur wenige Tage alte Kulturen wurden zur Infektion verwendet. Die Kombination wurde in Petrischalen durchgeführt, und zwar auf reinem Agar mit einem geringen Zusatz von Malzextrakt. Diese Kulturen wurden einen Tag bei Zimmertemperatur belassen. Dann wurden einige Tropfen Wasser zugesetzt, die Kultur aufgerührt und je Kombination 25 keimende Sorghumkörner, die vorher mit Formalin gebeizt waren, mit der so entstandenen Emulsion vermischt. Diese Schalen verblieben für zwei Tage in einem Thermostaten bei 25°C; die Keimlinge wurden dann in ein Saatbeet im Gewächshause ausgepflanzt. Die Infektion geschah am 27. Dezember und das Auspflanzen am 30. Dezember 1930. Die Pflanzen begannen am 1. Januar 1931 zu spitzen. Hier soll eine interessante Beobachtung nicht unerwähnt bleiben. In einer Anzahl von Parzellen zeigten die Keimlingé ein gekrümmtes, gewundenes Aussehen, mitunter lag der untere Teil des Stengels dem Boden waagerecht an. Die Parzellen, die dieses anormale Wuchsbild zeigten, erwiesen sich später als befallen. Parzelle Nr. 1 und 34 bildeten eine Ausnahme, jedoch war in beiden Fällen nur je eine Pflanze befallen.

Das weitere Wachstum war regelmäßig und die Entwicklung ganz normal. Zur Beschleunigung des Schossens wurde zusätzliche künstliche Beleuchtung gegeben, ähnlich wie es bei dem vorher beschriebenen Temperaturversuch der Fall war. Die Pflanzen in einigen Parzellen litten stark unter Fußkrankheiten. Die ersten Infektionen wurden am 11. April 1931 beobachtet. Befallene Ähren wurden ausgezählt am 15. April, 20. April, 15. Mai. In den letzten Auszählungen vom 18. Juni wurden sowohl Ähren als auch Pflanzen berücksichtigt.

Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse dieses Versuches. Innerhalb der sechs Kombinationen des ersten Sporidiensatzes erwiesen sich vier als pathogen; im zweiten Sporidiensatz, der fünf Sporidien enthielt, waren sechs Kombinationen pathogen: Beide Ergebnisse entsprechen den Erwartungen, wenn man zwei Geschlechter annimmt. In Parzelle 1, welche

Tabelle 2.

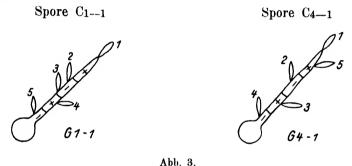
Infektionsergebnisse (Gewächshaus) von Kombinationen monosporidialer Linien.

Infiziert: 27. Dezember 1980. Geerntet: 18. Juni 1981. Infektionstemperatur: 24—25°('.

-			April 31		April 31	15. Mai 1931		18. Juni 1931			
Nummer	Kombination	Anzahl der Halme		Anzahl der Halme		Anzahl der Halme		Anzahl der Halme		Anzahl der Pflanzen	
Nur		gesund	krank	gesund	krank	gesund	krank	gesund	krank	gesund	krank
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 28 24 27 28 29 30 31 32 38 34 35 6 37 38 39 40 41	C1-1-1 C1-1-1×C1-1 2		3 1 - 1	1 - 2 3 - 2 2 - 1 3 - 3 2 1 1 - 1 - 1 1 3 - 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1		11   55   26 4 1 28   8 2 2 5 3 3   3 5 3 7   3 9 3 5 4 8 1 4 3 2 3 9   1   2 3	1 2 8 1 1 2 9 9 9 1 2 1 1 2 1 1 1 1 1 1 1 1 1	33 7 23 7 17 5 18 7 2 17 25 3 13 8 10 19 3 6 10 13 2 15 3 16 10 11 13 4 13 18 18 19 19 19 19 19 19 19 19 19 19 19 19 19	1 6 5 15 - 2 - 7 5 - 3 4 - 13 - 7 4 - 1 5	21 7 14 15 14 15 16 10 11 12 13 14 15 16 16 16 17 18 18 18 19 10 11 11 12 13 14 16 16 17 18 18 18 18 18 18 18 18 18 18	1 5 4 7 7 1 1 1 4 4 4 1 2 3 3 7 7 1 4 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1

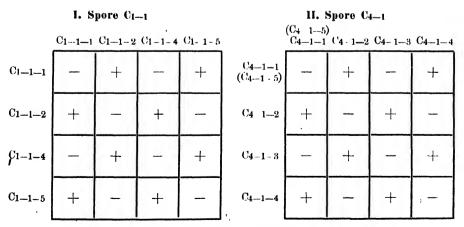
die mit der monosporidialen Linie  $C_{1-1-1}$  infizierten Pflanzen enthält, trat unerwarteter Weise eine befallene Ähre auf. Da von 22 vorhandenen Pflanzen nur eine infiziert war, während die durchschnittliche Befallshöhe 53,33  $^{\circ}/_{\circ}$  mit einem Minimum von 37,5  $^{\circ}/_{\circ}$  beträgt, darf man wohl annehmen, daß der Befall in diesem Falle auf ungenügende Beizung zurückzuführen ist. Weiterhin spricht auch die Tatsache, daß die Linie  $C_{1-1-1}$  in der Kombination mit der gleichgeschlechtigen Linie  $C_{1-1-4}$  keinen Befall gebracht hat, ganz und gar dagegen, daß es sich hier etwa um eine solopathogene Linie gehandelt hätte.

Die Verteilung der Geschlechter an den vier Segmenten sieht folgendermaßen aus:



Die Reduktionsteilung erfolgte in beiden Fällen im zweiten Teilungsschritt.

In beiden Sporidiensätzen waren nur zwei Geschlechter vorhanden (siehe auch folgendes Schema). Jedoch ist zu bedenken, daß die Kombinationen jeweils nur innerhalb der Sporidien einer Spore vorgenommen wurden. Wenn Sporidien verschiedener Sporidiensätze miteinander kombi-



Schema der Geschlechtsgruppen innerhalb von zwei verschiedenen Sporidiensätzen von Sphacelotheca sorghi.

174 K. Isenbeck:

niert würden, könnte sich eine größere Zahl von geschlechtlichen Gruppen ergeben. Einige weitere Zahlen der Tabelle scheinen darauf hinzudeuten. 88-4 mit 148-1, 144-1 und 161-1 ergaben keinen Befall; falls nur zwei Geschlechtsgruppen vorhanden sind, müßte man also folgern, daß diese vier Linien sämtlich vom gleichen Geschlecht sind. Kombiniert man aber 148-1 mit 144-1, erhält man  $50^{\circ}/_{0}$  Befall.  $144-1 \times 161-1$  ergab nur eine befallene Pflanze; die Verschiedengeschlechtigkeit dieser beiden Linien findet aber darin eine Stütze, daß  $C_1-1-4 \times 144-1$  keinen Befall,  $C_1-1-4 \times 161-1$  hingegen  $37,5^{\circ}/_{0}$  erbrachte.

Diese Ergebnisse deuten auf das Vordandensein mehrerer Geschlechtsgruppen, doch reicht das Material noch nicht aus, eine Angabe über ihre Anzahl zu machen.

#### 4. Wuchseigenschaft auf künstlichen Nährböden.

Um ein Bild über Wuchseigenschaften von Sphacelotheca sorgh auf künstlichen Nährböden zu erhalten, wurden 50 monosporidiale Linien auf Kulturmerkmale wie Farbe, Konsistenz, Sektorbildung, Wuchsgeschwindigkeit, Oberflachenbildung und Randbildung miteinander verglichen. Als Nährboden diente 1,4 % iger Kartoffel-Dextrose-Agar. Sämtliche 50 Linien wurden am selben Tage angesetzt und zwar in dreifacher Wiederholung in 250 ccm Erlenmeyerkolben. Einen Auszug der Ergebnisse dieses Versuches zeigt Tabelle 3.

Im ganzen ist zu sagen, daß in den meisten Eigenschaften sich sehr starke Unterschiede zwischen den verschiedenen monosporidialen Linien sowohl der gleichen (s. Abb. 4) als auch verschiedener Herkunfte zeigten.

Auffallend ist die Neigung bei Sphacelothera, auf kunstlichem Nährboden eine ganze Reihe verschiedener Färbungen zu zeigen. Die meisten Kulturen besitzen eine schwach gelblich-braune Farbe, doch gibt es auch schwarze, dunkelbraune, bläuliche und orangerote Kulturen. In der Linie 68-2, einer Monosporidialkultur der Herkunft St. Paul, die die normale gelblich-braune Färbung zeigt, erschien plötzlich ein leuchtend orangerot gefärbter Sektor (s. Abb. 5 Mitte). Dieser Sektor erschien im Dezember 1930. Bis zum Abschluß dieser Arbeit, nach acht Übertragungen, blieb dieser Variant sowohl in der Farbe als auch in anderen Charakteren vollkommen konstant. Das gleiche Verhalten zeigte ein schwarzer Variant, der in der normalerweise gelblichen Kultur der Linie C2-4-4 auftrat.

Dagegen war bei der Konsistenz der Kulturen nur eine sehr geringe Variation zu beobachten. Die meisten Linien zeigten eine weiche, "butterähnliche" Konsistenz, einige wenige waren von lederartigem Typ, wie z. B. die Varianten der Linie C2-4-4; andere wieder bildeten eine trockene, krümelige Struktur.

Sehr deutlich und stark ausgeprägte Unterschiede bestehen in der Eigenschaft, sogenannte "Mutanten" zu bilden. Wenn man die Bezeichnung "Mutation" nur auf solche Abänderungen anwendet, deren Konstanz und Erblichkeit durch das Vererbungsexperiment sichergestellt ist, müssen wir für die hier in Betracht kommenden Abänderungen der Erscheinungsform des Pilzes auf künstlichen Nährböden eine andere neutralere Bezeichnung wählen; um gleichzeitig die Form anzugeben, in der diese Abänderungen aufzutreten pflegen, soll daher nur von Sektoren gesprochen werden. Ficke und Johnston (8) stellen fest, daß Sektorbildung nur in Chlamydosporkulturen, nie aber bei monosporidialen Linien

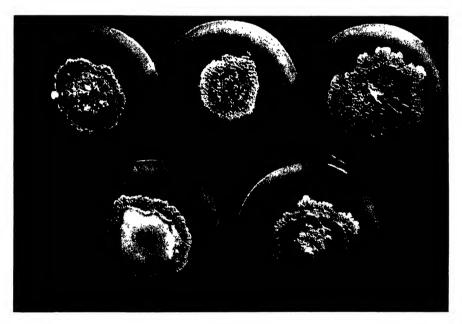


Abb. 4.

Kultureigenschaften von fünf monosporidialen Linien aus einer Chlamydospore von Sphacelotheca sorghi der Herkunft Californien.

$$C_{4-1-1}$$
  $C_{4-1-2}$   $C_{4-1-3}$   $C_{4-1-5}$ 

Beachte die Unterschiede in Wuchsform, Durchmesser, Oberflächenbildung und Randbildung.

beobachtet wurde. Die eigenen Versuche, die sich nur mit dem Studium von monosporidialen Linien beschäftigen, zeigen eindeutig, daß die Fähigkeit, Sektoren zu bilden, auch in monosporidialen Linien von Sphacelotheca sorghi keine ungewöhnliche Erscheinung ist. Aus Tabelle 3 ist zu ersehen, daß einige Linien sich sehr stark vor den anderen in bezug auf Sektorbildung herausheben. Abbildung 5 zeigt drei Monosporidialkulturen und die aus ihnen hervorgegangenen Varianten. Weiterhin soll eine Erscheinung Erwähnung finden, die in einigen Kulturen beobachtet wurde,

Kultureigenschaften monosporidialer Linien von Sphacelotheca sorghi. Versuch angesetzt in 250 ccm Erlenmeyerkolben auf KDA-Nährboden am 2. Februar 1931. Bonitiert am 9. bis 10. März 1931. Tabelle 3.

Bonitiert am 9. dis 10. März 1931.	Sektor- Wuchsgröße Oberflächenbildung Randbildung Burchmesser Oberflächenbildung Randbildung	schwach gelblich-braun weich: butterähnlich 0 0 0 40 41 40 mittel netzförmig mit Partien bak-	schwach gelblich-braun weich: butterähnlich 0 0 0 35 37 36 bakteroider Wuchs mit weißen teilweise netzförmig	schwach gelblich-braun weich; butterähnlich 0 0 0 40 40 45 mittel bis grob netzfürmig	schwach gelblich-braun, weich; butterähnlich 0 0 0 39 38 36 Mitte bakteroid glatt bis fein netz-radiale Furchen im durchscheinenden Licht schwach bläulich	gelblich; im durch- scheinenden Licht bläu- lich. Sektoren gelblich- braun	gelblich-braun; bläulich weich; butterähnlich — 0 1 — 32 35 unregelmäßig: grob netzförmig mittel netzförmig partienweise sehr fein netzför- Licht: ein bläulicher Sektor	gelblich-braun; bläulich weich: butterähnlich 0 0 0 40 41 40 wie vorher, nur größere Partien abwechselnel grob. Licht; ein bläulicher Sektor	gelblich-braun; krüme-krümelig 0 2 3 — 32 39 unregelmäßig; sehr grob und teil-mittel netzförmig Sek- lig, schwarze und grau- weiße Sektoren	im durchscheinenden weich: butterähnlich O O 34 35 34 regelmäßig glatt bakteroid bis fein radiale Furchen Licht tief dunkelblau	schwach gelblich-braun butterähnlich, etwas 0 0 0 33 29 29 regelmäßig mittel bis fein netz- krümelle
•	Nunmer der Kultur	('1-1-1 schwach gelk	C1-1-2 schwach gelb	C1-1-4 schwach gell	schwach gelb im durchsche Licht schwac	gelblich; im scheinenden I lich. Sektorei braun		30 -	C2-4-4 gelblich-brau lig, schwarze weiße Sektor	C <sub>4-1-1</sub> im durchsche Licht tief du	C4-1-2 schwach gelb

Mitte. mig	örmig	glatt		gefärbt	ρū					1			!			netz-	
cher als die Mitt grob netzförmig	n netzf	näßig netzför			tzförmi		1		1	1	1	1	1	1		grob	!
grob	lach, fei	nregel) oder		Rand nicht	rob ne	teil-farhlos										arblos. förmig	
nnregelmäßig, meist mittel bis grobfilacher als die Mitte, netzförmig; erhöht	regelmäßig: bakteroid mit Partien flach, fein netzförmig fädigen Wuchses	Mitte mittel netzförmig, schwach unregelmäßig glat bakteroid bis fein netzförmig oder netzförmig		glatt. mit einzelnen Furchen	unregelmäßig, meist bakteroid bis grob netzförmig fein netzförmig, einige Partien grob netzförmig	fein bis mittel netzförmig, teil-f weise glatt mit Furchen	mittel bis fein netzförmig		mittel netzförmig, am Rande er- böht und rauh	mittel netzförmig, Sektoren fädig und rauh	81-1	mittel netzförmig, am Bande erhöbt	mittel netzförmig; b und c Wiederholung; größere Partien grob netzförmig	mittel netzförmig; b am Rande erhöht	hakteroid glatt bis fein, netzförmig. am Rande stärker netzförmig	fein bis mittel netzförmig; Partien farblos.	grob netzförmig in der Mitte: dann fein bis mittel netzförmig: Sek- toren flach, fein netzförmig
unregel netzf	regelmä fädig	Mitte n bakte	nien.	glatt. 1	unregel fein grob	fein bi weise	mittel	St. Paul.	mittel 1 böbt	mittel netzf und raub	ähnlich 81-1	mittel n	mittel derbo	mittel n erhöht	haktero am F	fein bis	grob nel fein toren
24	1	45	aus der Herkunft Californien.	52	37	50	1		36	34	36	35	<del>2</del>	35	17	93	48
68	1	#	mft C	55	40	52	35	Herkunft	37	38	37	35	33	-33	43	37	49
39	1		Herku	1	38	1		der	38	88	37	98	퓼	35	46	8e	8
0	0	_ C	ler	0	0	С	0	Linien	0	-	0	0	0	0	=	0	-
0	0	0		0 -	0	0	1		0	31	0	0	0	0_	0	0	-
С	0	1	anten	1	0	_		oridi	0	-	0	0	С	0	0	0	-
butterähnlich, etwas krümelig	gelblich-braun weich: butterähnlich	weich: butterähnlich	II. Varianten	zäh. ledrig an der Oberfläche, darunt. sporid. Wuchs	ledrig zäh bis krüme- lig	ledrig zäh	krümelig	III. Monosporidiale	weich: butterähnlich bis leicht krümelig	weich: butterähnlich bis leicht krümelig	weich: butterähnlich bis leicht krümelig	weich; butterähnlich bis leicht krümelig	weich: butterähnlich bis leicht krümelig	krümelig	etwas zäh. lederig	butterähnlich bis krümelig	krümelig
schwach gelblich-braun, butterähnlich. mit Partien von bläu-krümelig licher Farbe	schwach gelblich-braun	im durchscheinenden Licht dunkelblau		dunkel-schwarz mit grauweißen Flecken	gelb-braun, schwarz- bläulich im durch- scheinenden Licht	braun-dunkelschwarz	schwach gelblich-braun krümelig		gelblich-braun	braun; Sektoren schwarz	gelblich-braun	leicht bräunlich	gelblich-braun	bräunlich mit dunklen Flecken	leicht rütlich	braun bis leicht rötlich butterähnlich krümelig	fast dunkel-braun; Sek- toren farblos
C4-1-3	C4-1-4	(4.1.5		('2-4-4-1	C2-4-4-2	(4-1-2-1	(4-1-2-2		18	81- 8	+ -18	853	834	63-2	143 1	144-1	161 1
															19	a .	

(Fortsetzung Tabelle 3).

Nummer der Kultur	Farbe	Konsistenz	Sektor- bildung		Wuchsgrüße Durchmesser	größe nesser	Oberflächenbildung Randbildung
ď		IV. Varianten aus der Herkunft St. Paul. 18ektoren und Flecken.	er Herkunf	t St.	Paul.	Sekto	ren und Elecker.
schwarze (Flecken)	leicht gelblich-oraum	butterannien bis leicht krümelig	- - -	=	90 90 90		ob mittel netziornig
83-4 (weißlgelb Flecken)	leicht gelblich-braun	butterähnlich bis leicht krümelig	0	0	35 38	36	mittel netzförmig, am Rande etwas erhöht
631 (roter Sektor)	rot	krümelig (zl. fest)	0	0	- 47	46	gewöllt, am Rande gefurcht
144 1 (schwarzer Sektor	braun-violett mit schwarzen Flecken	butterähnlich, etwas ledrig	0	· :	. 86   	36	fein bis mittel netzförnig: Sektor bei Wiederholung: fein netzförmig breiter dunkel- brauner Rand
144 -1 (violetter Sektor)	violett	krümelig	0	0	- 35	31	Mitte erhöht, grob netzförmig, dann bakteroid bis fein netz- förmig
144 1 (gelblbraun normal)	gelblich bis leicht rötlich butterähnlich, etwas ledrig	butterähnlich, etwas ledrig	   	=	i I	68	unregelmäßig, grob und mittelnetz- förmig
					Ē	-	
					-		

die sogenannte "Fleck-Mutation" (patch mutation). In der Linie 83-4, aus der Herkunft St. Paul, traten innerhalb des gelblich-braunen Myzels dunkelschwarz gefärbte Flecken auf. Es wurden Übertragungen von diesen Flecken gemacht, um das weitere Verhalten festzustellen. Tabelle 3 zeigt unter der Gruppe: Varianten aus St. Paul-Linien, daß die von diesen Flecken stammenden Kulturen wiederum die gelblich-braune Farbe der ursprünglichen Linie zeigten. In diesem Falle scheinen also die sogenannten "Fleckmutationen" nicht konstant zu sein.



Abb. 5.

Sektorbildung bei monosporidialen Linien von Sphacclotheca sorghi.

Obere Reihe: Ursprüngliche Wuchsform der Linien.

Untere Reihe: Wuchsbild der aus obigen Linien durch Sektorbildung entstandenen Varianten.

Deutliche Unterschiede erbrachten auch die Messungen der Größe der Kulturen. Die drei Zahlen dieser Säule in Tabelle 3 bedeuten den Durchmesser der drei Wiederholungen der gleichen Kultur. In einigen Fällen wurden nur zwei Wiederholungen gemessen. Wir finden Unterschiede, die sich zwischen 30 und 55 mm bewegen. Interessant ist, daß z. B. die Linie C4-1-2 im Durchschnitt einen Durchmesser von 30,3 mm, die von dieser Linie stammende Variante C4-1-2-1 jedoch einen solchen von 51 mm besitzt.

In der Oberflächenbildung ist die mit "netzförmig" bezeichnete Struktur vorherrschend: allerdings zeigt sich auch sehr häufig der soge180 K. Isenbeck:

nannte "bakteroide Wuchs", der durch eine glatte glänzende Oberflächenbildung ausgezeichnet ist. Gewöhnlich sind beide Formen partienweise am Gesamterscheinungsbild beteiligt. In sehr geringem Umfange wurde ein "fädiger" Wuchs gefunden, der als "myzeloid" bezeichnet wurde.

In bezug auf die Unterschiede in der Randbildung sei auf Tabelle 3 und Abb. 2 und 5 verwiesen.

## 5. Untersuchungen über die Vererbung der Färbung auf künstlichen Nährböden.

Die ausgedehntesten Untersuchungen über Vererbung verschiedenster Kultureigenschaften bei Pilzen sind, was die Brandpilze anbelangt, von Christensen (3) und Dickinson (6, 7) durchgeführt worden. Bezüglich Einzelheiten und weitere Literaturangaben sei auf diese Arbeiten hingewiesen.

Für die eigenen Untersuchungen an Sphacelotheca sorghi wurde die Kultureigenschaft "Färbung" gewählt, da, wie schon vorher betont, dieses Merkmal eine ziemlich große Variation zeigt und die schärfsten Unterschiede erbringt.

Für die Untersuchung schien eine Kombination besonders geeignet, die innerhalb eines Sporidiensatzes der Herkunft Kalifornien durchgeführt worden war. Der eine Partner, ('4-1-1, zeigte eine dunkelbraune, nahezu schwarze Färbung, wohingegen die zweite Linie, ('4-1-2, die gewöhnliche, helle gelblich-braune Farbe besaß. Chlamydosporen, die aus dieser Kreuzung stammten, wurden isoliert und zum Keimen gebracht. Mittels des Mikromanipulators wurden dann in der zuvor beschriebenen Weise die einzelnen Sporidien isoliert und herangezogen. Es gelang, in neun Fällen den gesamten Sporidiensatz, d. h. sämtliche vier Sporidien eines Promyzels zur Kultur zu bringen; in drei weiteren Fällen konnten nur jeweils drei Sporidien erhalten werden.

Da diese Untersuchungen gegen Ende meines Aufenthaltes in St. Paul durchgeführt wurden, stehen mir nur Bonitierungen aus Reagenzglaskulturen zur Verfügung.

Die Ergebnisse zeigt Tabelle 4. Es ist ersichtlich, daß innerhalb der F1-Gameten drei verschiedene Typen von Färbungen vorhanden sind: außer den beiden Elterntypen "schwarz" und "gelb-bräunlich" wurde ein neuer "intermediärer" beobachtet. In einem Falle wurde das ganze Promyzel in Kultur gebracht, nachdem vier Sporidien abgenommen worden waren; auch diese Kultur (s. Tab. 4), 12c-1, war vom intermediären Typ.

Es ist sehr schwierig, aus diesen Ergebnissen Schlüsse hinsichtlich der Zahl der Faktoren zu ziehen, die für die Vererbung der Farbe in Frage kommen. Das Vorhandensein von zwei additiven Faktoren, welches die Aufspaltung in einigen Sporidiensätzen erklären würde, stimmt für andere Fälle ganz und gar nicht. Da immerhin nur eine geringe Anzahl von Sporidiensätzen für diese Untersuchung zur Verfügung stand, erscheint es gefährlich, eine Anzahl verschiedener Faktoren von verschiedener

Tabelle 4.

Vererbung der Kulturfärbung bei Sphacelotheca sorghi.

Aus Kombination Canana (schwarz) × Canana (schlich-brann)

Aus	Kombination C4	11 (schwa	arz) $\times$ ('4-1-1	(gelblich-braun).	•
12a - 5 - 1	gelblich-braun )		12d -1- 1	schwarz	,
2	,,	0 0 4		gelblich-braun	
3	,, 1	0:0:4	2 3		1:1:2
- 4	,,		4	intermediär	
	,		•		,
$12_{\mathrm{c-1}}$ Chlamd.	intermediär		12d 2-1	intermediär	1
			- 2	schwarz	2:2:0
12c -1 - 1	gelblich-braun }		3	**	(2:2:0
2	schwarz (	1:1:2	4	intermediär	)
- 3	gelblich-braun	1:1:4			
4	intermediär )		12d-4-1	gelblich-braun	
			2	schwarz	
12c - 2 - 1	intermediär		- 4	intermediä <b>r</b>	
2	gelblich-braun	0:1:3			
3	" (	0:1:5	12e - 3 - 2	gelblich-braun	
- 4	, ,		3	,,	
			4	intermediär	
12c - 3 1	gelblich-braun				
-2	intermediär		$12e^{-5-1}$	gelblich-braun	1
3	gelblich-braun		-2	**	( , , ,
			- ,}	intermediär	0:1:3
$12c \ 4 \ 1$	gelblich-braun )		4	gelblich-braun	}
-2	schwarz	2:0:2			
3	, (	2:0:2	$12_{1-1-1}$	gelblich-braun	į.
. 4	gelblich-braun		2	intermediär	1:2:1
			3	schwarz	1:2:1
			4	intermediär	}
	10	11.11			
	1 <b>2</b> f4 - 1	gelbli	ch-braun }		
	2		" {0:1	1:3	
	-3	intern	",		
	4	mtern	nediar )		

Wertigkeit zu konstruieren, nur um die Ergebnisse in ein Mendelschema hineinzupressen. Drei Fälle bereiten besondere Schwierigkeiten. Der Sporidiensatz der Spore  $12_{a-5}$  zeigt gelblich-braune Färbung in allen vier Sporidien, also die Farbe des einen Elters; die Sporidiensätze von  $12_{e-5}$  und  $12_{f-4}$  spalten auf in drei gelblich-braun: ein intermediär. Diese Aufspaltungen können nicht durch einfache Verhältnisse erklart werden. In Tabelle 4 bedeuten die Aufspaltungszahlen die drei Farbgruppen: schwarz: intermediär: gelblich-braun.

#### Zusammenfassung.

Als wichtigste Ergebnisse vorliegender Arbeit, bei der ihrer zeitlichen Beschränkung wegen — der Assistentenaustausch ging nur über ein Jahr -- manche Fragestellung nicht bis zur lückenlosen Klärung durchgearbeitet werden konnte, sind folgende zu nennen:

- 1. Als günstigste Temperatur für die Keimlingsinfektion bei Sphacelotheca sorghi wurde 25°C gefunden.
- 2. Die Untersuchungen über die sexuellen Verhältnisse bei Sphacelotheca sorghi ergaben sehr geringe Neigung dieses Pilzes, auf künstlichen Nährböden zu Fusionen zwischen verschiedengeschlechtlichen mono-

sporidialen Linien zu schreiten. Immerhin wiesen andere Erscheinungen in solchen Kombinationen zweifellos auf geschlechtliche Reaktion.

- 3. Das Infektionsexperiment läßt innerhalb der von einzelnen Sporen stammenden Sporidiensätze auf das Vorhandensein von nur zwei Geschlechtsgruppen schließen. Die Reduktionsteilung fand stets im zweiten Teilungsschritt statt. Kombinationen von monosporidialen Linien verschiedener Sporidiensätze und -herkünfte deuten auf multipolare Sexualität.
- 4. Untersuchungen über das Verhalten monosporidialer Linien von Sphacelotheca sorghi auf künstlichen Nährböden zeigen eine starke Variation bei fast allen Merkmalen. Besonders wichtig sind bei diesem Pilz die deutlichen Unterschiede in der Färbung sowie auch in der Erscheinung der Sektorenbildung.
- 5. Eine Kombination zweier monosporidialer Linien, von denen die eine fast schwarze, die andere gelblich-bräunliche Färbung zeigte, diente als Studienobjekt für die Vererbung des Farbcharakters monosporidialer Linien auf künstlichen Nährböden. Es wurden 12 Sporidiensätze untersucht. Es wurden drei Färbungen beobachtet, schwarz, intermediär und gelblich-braun, die in folgenden Aufspaltungsverbältnissen auftraten: 2:2:0, 2:0:2, 1:2:1, 1:1:2, 0:1:3 und 0:0:4. Eine genaue Faktorenanalyse wurde nicht gegeben.

#### Literaturangaben.

- 1 Bauch, R., Archiv für Protistenkunde, 70, 417-466. 1930.
- 2 Christensen, J. J., Minn. Agr. Exp. Sta. Tech. Bul. 37, 1926.
- 3 Christensen, J. J., Phytopath. Zeitschr. IV, 129-188. 1931.
- 4 Dickinson, S., Proc. Roy. Soc. Medicine 19, 1-4. 1926.
- 5 Dickinson, S., Proc. Roy. Soc. London B 102, 174-176. 1927.
- 6 Dickinson, S., Proc. Roy. Soc. London B 103, 546-555. 1928.
- 7 Dickinson, S., Proc. Roy. Soc. London B 108, 395-423. 1931.
- 8 Ficke, C. H. and Johnston, Phytopath. 20, 231-249. 1930.
- 9 Hanna, W. F., Phytopath. 18, 1017-1021. 1928.
- 10 Hanna, W. F., Phytop. 19, 415-442. 1929.
- 11 Holton, C. S., Phytopath. 21, 835-842. 1931.
- 12 Kniep, H., Zeitschr. Bot 11, 257-284. 1919.
- 13 Kniep, H., Verhandl. Phys. Med. Ges. Würzburg 46, 1-13. 1920.
- 14 Kniep, H., Biblio, Gen. 5, 372-478, 1929.
- 15 Nicolaisen, W., Zeitschrift für Zucht. 1934. 19, 1-56, 1934.
- 16 Rodenhiser, H. A., Journ. Agr. Res. 45, 287-296. 1932.
- 17 Rodenhiser, H. A., Phytopath. 23, 30, 1933.
- 18 Stakman, E. C. and Christensen, J. J., Phytopath, 17, 827-834. 1927.
- 19 Stakman, E. C., Christensen, J. J., Eide, C. J. and Peterson, Bjern. Minn. Agr. Exp. Sta. Tech. Bul. 65. 1929.
- 20 Tisdale, W. H., Melchers, L. E. and Clemmer, H. J., Jour. Agr. Res. 34, 825-838. 1927.

#### Weitere Angaben:

Rodenhiser, H. A. and Barnes, Phytopath. 23, 30-31, 1933.

Melchers, L. E, Ficke, C. H. and Johnston, Jour. Agr. Res. 44, 5-11, 1932.

# Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.

## Über die pflanzenpathogene Wirkung der Erdstrahlen. I.

Von

#### Ernst Gäumann.

Mit 2 Textabbildungen.

Die vorliegende Arbeit möchte an einem gegebenen Beispiel experimentell nachprüfen, ob jene Strahlenarten, die summarisch als "Erdstrahlen" bezeichnet werden, einen (schädigenden oder fördernden) Einfluß auf das pflanzliche Leben ausüben.

In einer neu angelegten Gärtnerei auf dem Zollikerberge wurden im Laufe des Jahres 1933 eigenartige Wachstumsstörungen, vor allem Mindererträge, an Zinnien, Cosmeen, Tagetes, Saatzwiebeln und (schwächer) an Sellerie beobachtet; keine Störungen wurden dagegen an dazwischen

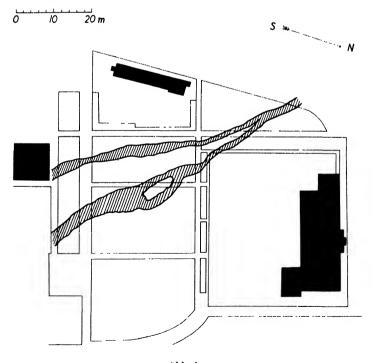


Abb. 1. Planskizze der Strahlungszenen (schraffiert).

liegenden Beeten von Astern, Löwenmaul, Gladiolen und Petersilien wahrgenommen. Durch einen zuverlässigen Rutengänger, Herrn Ing. C. Lienert in Zürich, wurden im Gebiet der beobachteten Wachstumsstörungen deutliche Erdstrahlen festgestellt; die Strahlungszonen sind auf Grund einer von Herrn Ing. Lienert angefertigten Planskizze in Abb. 1 schraffiert eingezeichnet.

Da das Problem der Erdstrahlen und ihrer pathogenen Wirkung gegenwärtig in weiten Kreisen der Bevölkerung besprochen wird, schien es wünschenswert, an diesem Beispiel einige Untersuchungen durchzuführen, welche zeigen sollten, ob die beobachteten Wachstumsstörungen primär durch Erdstrahlen hervorgerufen wurden oder durch Verschiedenheiten in der chemischen Zusammensetzung des Bodens.

Tabelle 1. Reaktion, Kalk- und Humusgehalt der untersuchten Parzellen.

	1	Unbestrahl	t	Bestrahlt			
Tiefe der Probenentnahme	Reaktion pH	Kohlen- saurer Kalk	Humus¹)	Reaktion pH	Kohlen- saurer Kalk	Humus 1)	
	ļ ,	º/n	٥/^		º/n	%	
	W	estliche Re	eizzone				
Oberfläche	8,57	24,5		8,66	13,0		
.† 15 cm	8,57	27,0	3,7	8,62	9,4	0.0	
± 30 cm	8,41	26,0	3,7	8,62	24,0	0,6	
₫ 50 cm	8,41	26,0		8,62	39,0		
	Nor	döstliche I	leizzone				
Oberfläche	8,57	13,0	1	8,36	22,0	ı	
+ 15 cm	8,31	9,0		8,48	22,6		
<u> </u>	8,38	11,0	2,2	8,45	21,0	4,0	
† 50 cm	8,52	24,0	Í	8,26	29,2		

Die chemische Globalanalyse, die von der Eidgenössischen landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon in freundlicher Weise durchgeführt wurde (Tabelle 1), vermochte keine wesentlichen Unterschiede in der Zusammensetzung des Bodens aufzudecken: im westlichen Strahlungsast ist die Reaktion der nicht erkrankten ("unbestrahlten") Zone etwas saurer und der Humusgehalt erheblich größer als in der angrenzenden erkrankten ("bestrahlten") Zone; im nordöstlichen Strahlungsast ist dagegen die Reaktion der nicht erkrankten Zone etwas alkalischer und der Humusgehalt um etwa die Hälfte kleiner als in der angrenzenden erkrankten Zone; der Kalkgehalt ist (entsprechend der außergewöhnlich alkalischen Reaktion des Bodens) überall sehr hoch, schwankt aber von einer Probe zur andern mitunter so stark, daß aus den Globalanalysen keine weiteren Schlüsse abgeleitet werden können.

Im Einverständnis mit den Eigentümern der in Frage kommenden Grundstücke wurden im Jahre 1934 die in dieser Mitteilung zu be-

<sup>1)</sup> In der Gesamtprobe.

sprechenden Anbauversuche eingeleitet; sie zerfallen in zwei Gruppen, 1. in Feldversuche, die unmittelbar im bestrahlten Gebiet selbst durchgeführt wurden; und 2. in Laboratoriumsversuche, die im Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich zur Ausführung gelangten. Obschon es nicht Sitte ist, Anbauversuche schon nach einem einzigen Jahr zu veröffentlichen (normalerweise wird, um die Zufälligkeiten der Witterung auszugleichen, eine dreijährige Wiederholung für notwendig erachtet), glauben wir, im vorliegenden Fall mit Rücksicht auf die Art der Ergebnisse und auf die rege Diskussion, die über das Erdstrahlenproblem herrscht, eine Ausnahme machen zu dürfen; dies um so mehr, als wir mit unsern Versuchen nicht nur eine sachliche Überprüfung des in Frage stehenden Erdstrahlenbeispieles anstrebten, sondern zu gleicher Zeit den interessierten Kreisen zeigen wollten. in welcher Weise man derartige Versuche, rein methodisch, anlegen muß, um zuverlässige Einblicke zu gewinnen.

#### 1. Feldversuche.

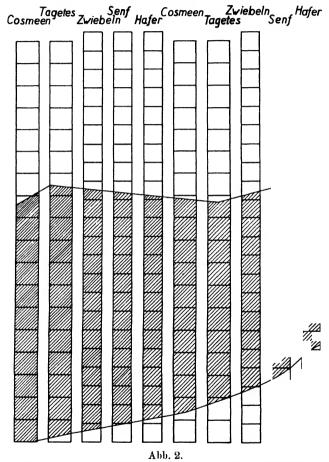
Die Anordnung der Feld- bzw. Freilandversuche ist in Abb. 2 wiedergegeben. Ein Grundstück von 11 m Länge und 8,70 m Breite, das im Gebiet des nordöstlichen Strahlungsastes lag, wurde in sechs Streifen von je 0,5 m Breite und in vier Streifen von je 0,6 m Breite zerlegt. Zwischen je zwei Streifen lag ein Isolierstreifen von 0,3 m Breite; ferner wurden die Randstreifen auf 0,3 m angesetzt. Jeder der 50 cm breiten Streifen wurde in 22 Quadrate von 50 cm Kantenlänge aufgeteilt, jeder der 60 cm breiten Streifen in 18 Quadrate von 60 cm.

Die 50×50 cm Quadrate wurden mit abgewogenen Mengen Hafer bzw. Ackersenf (beide in Breitsaat) oder mit Elsässer Setzzwiebeln (vier Reihen, in der Reihe 15 cm Abstand) bepflanzt, die 60×60 cm Quadrate mit je vier Pflanzen von "Tagetes mexicana zitronengelb" bzw. mit frühblühenden Cosmeenhybriden (Abstand von Pflanze zu Pflanze 30 cm). Als Düngung war im Herbst 1933 eine kräftige Stallmistdüngung verabreicht worden; während des Versuchsjahres 1934 unterblieb jegliche Düngung.

Senf und Hafer wurden am 12. April 1934 ausgesäet; wir verdanken das Saatgut Herrn Direktor Dr. F. T. Wahlen von der Eidgenössischen landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon. Ebenfalls am 12. April wurden die Zwiebeln gesteckt. Cosmeen und Tagetes waren am 28. März in unserem Institut in Saatschalen ausgesäet worden: sie wurden am 16. April im Treibbeet pikiert und am 1. Juni ins Versuchsfeld verpflanzt. Am 14. Juni wurde der Senf geerntet (alle Pflanzen wurden einzeln und gleichmäßig über dem Erdboden abgeschnitten), am 3. Juli wurde der Hafer (in gleicher Weise), am 23. und 24. Juli wurden die Zwiebeln, Tagetes und Cosmeen geerntet. Bei jeder Parzelle wurde das Grüngewicht, das Lufttrockengewicht und (durch Bestimmung des Trockensubstanzgehaltes

der lufttrockenen Proben) der Trockensubstanzertrag bestimmt. Herrn Obergärtner (). Riethmann, der alle diese Arbeiten mit Umsicht und Sorgfalt ausführte bzw. leitete, möchte ich auch hier meinen Dank wiederholen.

Wir stellen die Ergebnisse in drei Tabellen dar, in Tabelle 2 die Grüngewichte, in Tabelle 3 die Trockensubstanzerträge und in Tabelle 4



Anbauplan der Freilandversuche 1934 auf dem Zollikerberg.

die Mittelwerte und die mittleren Fehler. Die Anordnung der Parzellen in Tabelle 2 und 3 ist von unten nach oben und von links nach rechts genau die gleiche wie im Versuchsplan in Abb. 2. Die Erträge der Parzellen, die in der bestrahlten Zone liegen, sind kursir gedruckt.

Im Zahlendickicht der Einzelergebnisse der Tabellen 2 und 3 lassen sich durch bloße visuelle Betrachtung kaum irgendwelche charakteristischen Einzelheiten herauslesen; diese beiden Tabellen sind denn auch nur hergesetzt worden, um, rein methodisch, zu zeigen, in welcher Weise die

Mittelwerte der Tabelle 4 gewonnen wurden. Wir halten uns bei unserer Besprechung ausschließlich an die Tabelle 4. In dieser Tabelle sind die Differenzen zwischen den mittleren Erträgen dann mit — bezeichnet, wenn die bestrahlten Parzellen einen Minderertrag gegenüber den unbestrahlten Parallelen aufweisen; sie sind dann mit + bezeichnet, wenn die bestrahlten Parzellen einen Mehrertrag gegenüber den unbestrahlten Parallelen aufweisen. Als mittlerer Fehler der Differenz ist der Wert  $m_D = \pm |m_1^2 + m_2^2|$  eingesetzt, wobei  $m_1$  und  $m_2$  die mittleren Fehler der einzelnen Mittelwerte sind. Eine Differenz gilt dann als sichergestellt, wenn sie mindestens doppelt so groß ist wie ihr mittlerer Fehler.

Bei den Cosmeen sind die mittleren Grüngewichte der bestrahlten Parzellen erheblich niedriger als diejenigen der unbestrahlten Parallelen. Beim westlichen Streifen ist die Differenz nicht völlig sichergestellt (Differenz 229: mittlerer Fehler der Differenz ± 130,1); im östlichen Streifen ist dagegen der Ausschlag objektiv gesichert (Differenz 293; mittlerer Fehler der Differenz 125,4). Die Trockensubstanzerträge verhalten sich ähnlich: nicht gesicherte Differenz beim westlichen Streifen (Differenz 17,1: mittlerer Fehler der Differenz ± 16,5), gesicherte Differenz beim östlichen Streifen (Differenz 34,4: mittlerer Fehler der Differenz ± 15,9).

Tabelle 2. Grüngewichtserträge der Feldversuche 1934 auf dem Zollikerberg (Gewichte in Gramm).

		Zwie	ebeln					Zwi	ebeln		
Cosmeen	Tagetes	Kraut	Zwiebeln	Senf	Hafer	('osmeen	Tagetes	Kraut	Zwieheln	Senf	Hafer
1276 1151 1325 1678 1203 1286 1721 1509 1405 1088 834 736 697 1624 1447	1023 1010 1094 1392 1051 1136 557 1050 1098 965 1079 1033 1064 1185 1151	780 348 516 995 709 798 912 867 416 702 586 481 592 395 325	1446 693 825 1754 1243 1600 1286 1390 630 945 861 645 1009 630 440	1950 1940 2180 1900 1835 2100 1815 2040 1925 2120 1830 2000 2005 2010 1875	1920 2040 2210 2315 2160 1990 2235 1860 2460 1845 1995 2005 1835 2475 2010	1788 1172 1252 1011 1612 1589 1706 1063 1390 645 1352 1351 1085 1326 1342	1166 1209 1243 947 1002 1309 1115 1311 1326 1326 1257 1288 1196 1416 1233	670 535 463 410 438 628 660 587 732 452 452 467 886 600	1137 969 1009 1190 1225 1290 1380 1358 1237 780 849 1578 742 1530 948	2370 2255 1980 2210 1900 2230 2255 1975 1650 1755 1660 1885 1885	1825 1420 1820 1175 2805 1925 2140 2115 1900 1505 1840 1800 1555 2015
1277 988	1189 1157	730 466	1180 759	1825 1750	2160 2210	1150 1090	1042 1240	9 <b>45</b> 753	1395 1225	1855 2160	1760 2120
1027	1154	510 1062	798 1606	1835 1770	2105 2120	1649	1113	823 699	1280 1216	2300 2045	2280 1940
		835	1374	1770	2110			468	995	1750	1970
		$270 \\ 233$	507 475	1840 1950	1933 2600			597 466	1212 859	1500 1690	2370 1955
		~-,,,,		1 1000					3000		

Bei Tagetes liegen die Verhältnisse reziprok: hier lieferten die bestrahlten Parzellen einen Mehrertrag gegenüber unbestrahlt, und zwar sowohl im Grüngewicht als im Trockensubstanzertrag, wobei wiederum die Differenz im westlichen Streifen nicht sichergestellt ist, wohl aber im östlichen Streifen.

Beim Zwiebelkraut sind die Ergebnisse nicht eindeutig. Im westlichen Streifen lieferte die bestrahlte Zone einen Minderertrag gegenüber unbestrahlt: dieser Minderertrag ist jedoch weder beim Grüngewicht noch bei den Trockensubstanzerträgen rechnerisch sichergestellt. Im östlichen Streifen lieferte dagegen die bestrahlte Zone einen Mehrertrag gegenüber unbestrahlt, welcher Mehrertrag jedoch nur beim Grüngewicht einigermaßen sichergestellt ist, bei der Trockensubstanz dagegen im Rahmen des mittleren Fehlers liegt.

Die Zwiebeln selbst lieferten im westlichen Streifen innerhalb der bestrahlten Zone einen für das Grüngewicht rechnerisch sichergestellten Minderertrag, währenddem im östlichen Streifen die Grüngewichte für bestrahlt und unbestrahlt sich decken. Trockensubstanzbestimmungen mußten bei den Zwiebeln aus technischen Gründen unterbleiben.

Senf und Hafer zeigen beide in der bestrahlten Zone einen Minderertrag, der bei beiden im westlichen Streifen rechnerisch nicht sichergestellt ist, und zwar weder für das Grün- noch für das Trockengewicht,

Tabelle 3.
Trockensubstanzerträge der Feldversuche 1934 auf dem Zollikerberg (Gewichte in Gramm).

Cosmeen	Tagetes	Zwiebel- kraut	Senf	Hafer	('osmeen	Tagetes	Zwiebel- kraut	Senf	Hafer
138,8 144,3 173,7 217,2 154,2 139,6 214,9 180,4 191,1 156,3 123,7 112,8 104,9 180,6 188,7 166,9 136,2 125,8	128,5 182,0 143,7 176,7 141,6 153,2 79,9 136,8 151,7 131,8 154,0 129,6 142,1 161,9 153,9 163,8 162,5	58,2 28,6 39,6 79,7 50,5 59,9 668,1 31,2 51,3 41,9 34,1 32,4 31,0 28,8 55,7 41,4 42,3 82,1 67,4 26,9 15,7	256,5 288,9 271,9 251,6 258,4 295,4 264,6 248,0 275,9 207,0 261,3 260,9 246,8 276,8 276,8 276,8 276,8 276,9 242,5 267,1 276,9 302,5	384,8 419,3 428,2 435,8 398,0 371,4 445,7 363,2 508,7 389,2 418,1 417,5 380,9 127,7 437,5 409,8 405,0 376,0 505,7	245,4 155,8 173,5 143,9 222,8 196,5 211,5 138,7 185,0 110,6 163,6 181,0 132,7 174,4 212,5 166,6 164,4 229,6	151,3 153,4 156,5 119,4 138,2 173,9 139,8 165,1 168,5 177,1 170,5 172,4 150,5 172,3 164,1 140,7 167,4 154,1	59,6 43,1 39,6 40,4 40,5 53,3 53,1 49,7 52,0 38,5 48,9 62,2 41,5 74,2 61,7 67,6 349,5 38,8	320,0 285,2 298,8 290,7 246,7 275,2 265,2 211,7 211,7 225,9 247,0 238,9 262,4 280,6 245,5 236,2 212,6 246,7	387,8 307,6 386,6 265,6 480,8 382,1 433,5 424,8 380,8 323,4 318,7 397,2 370,4 311,6 398,6 420,6 445,2 398,3 497,1 435,0

währenddem bei beiden die Differenz im östlichen Streifen sowohl für die Grün- als für die Trockengewichte über den Bereich des mittleren Fehlers hinausragt, also gesichert ist.

Wir fassen zusammen. Die eingangs erwähnten Beobachtungen über Wachstumsstörungen innerhalb der "Erdstrahlenzone" auf dem Zollikerberg werden durch unsere Feldversuche des Jahres 1934 im großen und ganzen bestätigt, desgleichen die Beobachtung, daß nicht alle Kulturen in gleicher Weise auf die "Erdstrahlen" reagieren: Cosmeen, Senf und Hafer lieferten in ihren Grüngewichten innerhalb der "Strahlungszone" Mindererträge von etwa 10 bis  $15\,^{0}/_{0}$ , in ihren Trockensubstanzernten Mindererträge von etwa 5 bis  $15\,^{0}/_{0}$ . Tagetes scheint umgekehrt durch die "Erdstrahlen" in ihrem Wachstum gefördert zu werden. Die Setzzwiebeln endlich lieferten kein eindeutiges Ergebnis.

Tabelle 4.

Zusammenstellung der Ergebnisse der Feldversuche 1934
auf dem Zellikerberg (Gewichte in Gramm).

		weig (destricate		
Kultur	Bestrahlt	Unbestrahlt	Differenz D	Mittlerer Fehler mp der Differenz
		Grüngewicht		
Cosmeen	$\begin{array}{c} 1148 \pm 97,5 \\ 1179 \pm 74,1 \end{array}$	$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	229 293	$\frac{1}{1}$ 130,1 $\frac{1}{1}$ 125,4
Tagetes	$1101 + 21,5  1266 \pm 35,1$	1037   94,0 1149 <u> </u>		+ 96,4 + 52,5
Zwiebelkraut	$\begin{array}{c} 553 \pm 65,5 \\ 703 \pm 62,8 \end{array}$	699 H 75,2 555 <u>I</u> 80,5	$-146 \\ +148$	1- 104,6
Zwiebeln	$861 \pm 98,5 \\ 1154 \pm 97,2$	$\begin{array}{c} 1207 \pm 134,1 \\ 1155 \mp 47,3 \end{array}$	- 343 1	+ 99,4 + 108,1
Senf	1885 ± 31,2 1864 ± 67,2	1964 : 35,9 2110 <u>+</u> 84,3	79 246	+ 49,6 + 107,8
Hafer	$\begin{array}{c} 2067 \pm 50,4 \\ 1741 \pm 64,1 \end{array}$	$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	- 115 - 210	9 ),4 + 109,1
	Tro	ckensubstanzertra	g	
Cosmeen	$\begin{array}{c c} 151,9 \pm 10,1 \\ 163,0 \pm 9,3 \end{array}$	$169,0 \pm 13,9 \\ 197,4 \pm 12,9$	— 17,1 — 34,4	$\frac{\perp}{+}$ 16,5 15,9
Tagetes	$149.4 \pm 3.6  164.6 \pm 3.9$	$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$+13,6 \\ +14,1$	± 10,4 1 6,7
Zwiebelkraut	13,2 ± 4,9 56,4 ± 4,7	$53,6 \pm 5,8 \ 46,7 \pm 2,1$	-10,4 + 9,7	$\begin{array}{ccc} + & 7,6 \\ \pm & 5,1 \end{array}$
Senf	$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	270,1 ± 6,0 264 8 ± 9,8	16,4 26,9	± 8,8 ± 11,6
Hafer	405,4 + 9,8 355.8 + 12.6	$\begin{array}{c} 426,1 \pm 16,0 \\ 403,3 \pm 16,4 \end{array}$	- 20,7 - 47,5	$\begin{array}{c c} \pm & 18.8 \\ \pm & 20.7 \end{array}$

Ferner lassen unsere Anbauversuche vermuten, daß in der östlichen Hälfte der Parzelle der (bei Cosmeen, Senf und Hafer) hemmende oder (bei Tagetes) fördernde Einfluß der "Strahlungszone" stärker ist als in der westlichen Hälfte; denn die Ausschläge sind in der östlichen Versuchsgruppe sowohl nach der positiven als nach der negativen Seite hin durchwegs stärker (und daher rechnerisch häufiger sichergestellt) als in der westlichen Versuchsgruppe.

Nachdem dergestalt die von den Gärtnern beobachteten Wachstumsabweichungen innerhalb der "Strahlungszone" objektiv sichergestellt sind, treten wir nunmehr an den Kern der Frage heran: Werden diese Wachstumsabweichungen wirklich durch Erdstrahlen verursacht oder werden sie nicht vielmehr durch chemische Besonderheiten des fraglichen Bodenstreifens hervorgerufen, welche Besonderheiten durch die eingangs zitierten Globalanalysen nicht erfaßt wurden? Der Beantwortung dieser Frage sucht das nächste Kapitel, "Laboratoriumsversuche", näherzukommen.

#### 2. Laboratoriumsversuche.

Die Laboratoriumsversuche wurden in Form von Topfversuchen durchgeführt. In einem Grundstück, das unmittelbar an unsere Versuchsparzelle auf dem Zollikerberg grenzte, wurden größere Mengen der Ackerkrume ausgegraben, und zwar 1. in einem Streifen außerhalb der Strahlungszone, und 2. in einem Streifen der Strahlungszone selbst, per Lastwagen nach Zürich in unser Institut gebracht, durchgearbeitet, gesiebt und in 140 tarierte Töpfe eingefüllt.

Als Versuchstöpfe dienten besonders konstruierte, säureglasierte (und deshalb, praktisch gesprochen, chemisch nicht angreifbare) Steinguttöpfe mit Ventilationseinbau, der die Wurzelatmung gewährleistet; sie sind bei Vegetationsversuchen üblich und sind überdies beschrieben und abgebildet bei Tanja (Phytopathologische Zeitschrift, 6, 1933). Jeder Topf erhielt genau 5,0 kg lufttrockene Erde. Die Töpfe wurden auf Rollwagen gestellt, je 20 auf einen Wagen. Bei guter Witterung wurden die Rollwagen ins Freie geschoben, nachts und bei schlechter Witterung in eine luftige Vegetationshalle gefahren. Da das Ausgangsgewicht bei allen Töpfen bekannt war, konnte die Feuchtigkeit stets konstant gehalten werden. Durch den eingangs genannten Rutengänger, Herrn Ing. C. Lienert, wurde festgestellt, daß im Gebiet der Vegetationshalle und der Geleiseanlage keine Erdstrahlen vorhanden sind; da überdies der Standort der Wagen fast täglich wechselte, dürfen auch andere, durch Metallruten nicht feststellbare Erdeinflüsse als ausgeschaltet bzw. ausgeglichen gelten.

Die Versuchsfrage der Topfversuche lautet demnach: Wie gestaltet sich das Wachstum unserer Versuchspflanzen unter sonst gleichen äußern Bedingungen in "bestrahlter" und in "nicht bestrahlter" Erde, wenn die betreffenden Böden aus ihrem natürlichen Verband und von ihrer natürlichen Unterlage entfernt und in ein strahlungsfreies Gebiet gebracht werden?

Die Topfversuche zerfallen in zwei Gruppen: 65 Töpfe mit "bestrahlter" und 65 Töpfe mit "nicht bestrahlter" Erde, nebst einigen Reserven. Es wurden die gleichen fünf Kulturen verwendet wie bei den Feldversuchen auf dem Zollikerberg: Cosmeen, Tagetes, Setzzwiebeln, Hafer und Senf, bei jeder Kultur 13 Töpfe mit "bestrahlter" und 13 parallele Töpfe mit "nicht bestrahlter" Erde.

Cosmeen und Tagetes wurden am 2. Juni in die Töpfe gepflanzt, und zwar je zwei kräftige Exemplare je Topf. Setzzwiebeln wurden am 14. Mai gesteckt, je fünf gleichwertige Individuen je Topf. Hafer und Senf wurden ebenfalls am 14. Mai in die Töpfe gesäet und nach dem Aufgehen sukzessive derart gelichtet, daß beim Hafer je 40 Pflanzen je Topf stehen blieben, beim Senf je 25 Pflanzen.

Am 19. Juni erhielten Hafer und Senf eine Kopfdüngung von Nitrophoska (16,5 %), Ps. 16,5 %, N. 20 %, K), und zwar je Topf je 100 ccm einer Nährlösung, die 2 g Nitrophoska je Liter enthielt. Am 22. Juni erhielten alle 130 Töpfe 200 ccm derselben Nährlösung.

Am 5. Juli wurden Hafer und Senf geerntet, am 10. Juli Tagetes und am 31. Juli Cosmeen und Zwiebeln. Bei jedem Topf wurde das geerntete Grüngewicht, das Lufttrockengewicht und (durch Bestimmung des Trockensubstanzgehaltes der lufttrockenen Substanz) der Trockensubstanzertrag ermittelt. Die aus den je 13 zusammengehörenden Töpfen errechneten Mittelwerte und errechneten Fehler sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

Tabelle 5.

Zusammenstellung der Ergebnisse der Laboratoriumsversuche 1934 mit Erde vom Zollikerberg (Gewichte in Gramm pro Topf).

	Kultur	Bestrahlt	- Unbestrahlt	Differenz D	Mittlerer Fehler mD der Differenz
Cosmeen	Grüngewicht Trockengewicht	$ \begin{array}{ c c c c c c c c c c c c c c c c c c c$	$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	-21,4 $-5,7$	+ 8,21 1,75
Tagetes	Grüngewicht Trockengewicht	$\begin{array}{ c c c c c c c c c c c c c c c c c c c$	$\begin{array}{c} 135,3 \pm 3,76 \\ 24,8 \pm 0,60 \end{array}$	$^{+}_{-0,1}$	± 4,51 ± 0,92
Zwiebelkrau	t Grüngewicht Trockengewicht	$39,1 \pm 1,59 \ 3,9 \pm 0,09$	$44.0 \pm 1.44  4.3 \pm 0.09$	- 4,6 - 0,4	$_{\pm0,13}^{\pm2,15}$
Zwiebeln	Grüngewicht	$117,3 \pm 4,83$	$165,5 \pm 6,22$	- 48,2	<u>-</u> 1 7,88
Senf	Grüngewicht Trockengewicht	$\begin{array}{c} 26.5 \pm 0.70 \\ 5.8 \pm 0.16 \end{array}$	$32,5 \pm 1,25 \ 7,7 \pm 0,38$	- 6,0 - 1,9	$\begin{array}{c} \pm 1.43 \\ \pm 0.41 \end{array}$
Hafer	Grüngewicht Trockengewicht	$71,7 \pm 1,44$ $18,6 \pm 0,40$	$78,7 \pm 1,98 \ 20,7 \pm 0,63$	- 7,0 - 2,1	$\frac{+}{+}$ 2,44 $\frac{+}{+}$ 0,74

Die Methode der Topfversuche hat den Vorteil, daß alle Vergleichseinheiten unter kontrollierbaren änßern Bedingungen stehen und daß die Zufälligkeiten der Witterung ausgeschaltet sind; ihr Boden stellt eine Durchschnittsprobe aus den in Frage stehenden Erdstreifen dar: die Ungleichheiten, die in einem frisch rigolten Boden (wie er in der Gärtnerei auf dem Zollikerberg vorliegt) nicht zu vermeiden sind und die in den erheblichen Ertragsschwankungen der Tabellen 2 und 3 zum Ausdruck kommen, fallen weg. Selbstverständlich kann man gegen die Methode der Topfversuche grundsätzlich den Einwand erheben, daß sie nicht mit natürlich gewachsenem Boden arbeitet, sondern mit Bodensubstanz, die absichtlich nach allen Richtungen hin durchgearbeitet und durchgesieht und egalisiert worden ist. Nach dem heutigen Stand unseres Wissens müssen wir jedoch eine derartige, intensive, mechanische Auflockerung des Bodens wegen der damit erzielten besseren Durchlüftung desselben als einen Vorteil betrachten, und wir lehnen es ab, mystischen Bedenken über das Zerbrechen des Boden "skelettes" Raum zu geben.

Der Vorteil der egalisierten Bodenmasse und der kontrollierten äußeren Bedingungen kommt in Tabelle 5 vor allem darin zum Ausdruck, daß die Fehlerschwankungen gering sind und daß daher, verglichen mit Tabelle 4, bei fast allen Versuchsreihen die Differenz D über ihren mittleren Fehler mp hinausragt.

Die Kulturen, die im Feldversuch auf dem Zollikerberg im Bereich der Strahlungszone einen eindeutigen Minderertrag gegenüber unbestrahlt geliefert haben, nämlich Cosmeen, Senf und Hafer, lieferten denselben auch im Laboratoriumsversuch, und zwar ist dieser im Laboratoriumsversuch erzielte Minderertrag sowohl für das Grüngewicht als für den Trockensubstanzertrag rechnerisch durchweg sichergestellt. Die Differenzen zwischen "bestrahlt" und "unbestrahlt" sind zwar im Laboratoriumsversuch prozentual nicht so viel größer als im Feldversuch auf dem Zollikerberg, wo sie etwa 10 bis 15 % für das Grüngewicht und 5 bis 15 % für den Trockensubstanzertrag ausmachten, währenddem sie sich beim Laboratoriumsversuch auf etwa 10 bis 20 % für das Grüngewicht und auf etwa 10 bis 25 % für den Trockensubstanzertrag belaufen; den Ausschlag geben vielmehr die mittleren Fehler der Differenzen, die eben, weil die Schwankungen zwischen den je 13 zusammen gehörenden Versuchstöpfen gering sind, sich auch ihrerseits innerhalb normaler Grenzen halten. Man wird daher sagen dürfen, daß die Erde aus der "bestrahlten" Zone auf dem Zollikerberg auch in der Versuchsanlage der Eidgenössischen Technischen Hochschule, wo keine Erdstrahlen nachgewiesen werden konnten und wo auch sonst aus versuchstechnischen Gründen (andauernde Verschiebung der Wagen) ein Strahlungseinfluß als ausgeschlossen erscheint, in den Versuchen des Jahres 1934 bei Cosmeen, Senf und Hafer einen rechnerisch sichergestellten Minderertrag von etwa 10 bis 20 % Grüngewicht und von etwa 10 bis  $25~^{6}/_{0}$  Trockensubstanz gegenüber den "unbestrahlten" Parallelen geliefert hat, also einen Minderertrag, der sich in ungefähr der gleichen Größenordnung bewegt wie der auf dem freien Felde erzielte Minderertrag.

Dieses Ergebnis scheint uns bedeutsam zu sein. Wollte man (wie dies von seiten enragierter Erdstrahlenanhänger getan wird) annehmen, daß die Ertragsstörungen, die auf dem Zollikerberg bei Cosmeen, Senf und Hafer im Strahlungsgebiet tatsächlich vorhanden sind, unmittelbar durch Einwirkung der Erdstrahlen hervorgerufen wurden, so müßte dieser wachstumshemmende Einfluß in der strahlungsfreien Versuchsanlage der Eidg. Technischen Hochschule ausbleiben. Das tut er aber nicht, sondern der Ertragsrückgang tritt in der Versuchsanlage der Eidg. Technischen Hochschule auf den Böden der Strahlungszone in gleichem Sinne zutage. Die Schlußfolgerung scheint daher gerechtfertigt zu sein, daß der bei Cosmeen, Senf und Hafer auf dem Zollikerberg beobachtete Ertragsrückgang nicht primär durch die in jener Zone nachgewiesenen Erdstrahlen bedingt war, sondern primär durch Verschiedenheiten in der chemischen Zusammensetzung des Bodens (z. B. Mangel an seltenen Nährstoffen wie Bor oder Mangan).

Man wird gegen diese Schlußfolgerung einwenden können, daß in der Erdstrahlenzone auf dem Zollikerberg zwei verschiedenartige Dinge zusammenfallen, nämlich 1. eine Ungleichheit in der chemischen Zusammensetzung des Bodens (wie dies bei frisch in intensive Kultur genommenen Böden häufig vorkommt), und 2. die pflanzenpathogene Wirkung der Erdstrahlen selbst; ein Teil des beobachteten Ertragsrückganges wäre demnach auf das Konto der chemischen Ungleichheit des Bodens zu setzen, ein anderer Teil auf das Konto der pathogenen Wirkung der Erdstrahlen. Wenn diese Betrachtungsweise richtig wäre, so müßte der Unterschied zwischen den "bestrahlten" und den "unbestrahlten" Serien in der Versuchsanlage der Eidg, Technischen Hochschule geringer sein als im Feldversuch auf dem Zollikerberg; denn an der Eidg. Technischen Hochschule gelangt nur die Bodenkomponente zur Auswirkung, nicht aber die Erdstrahlenkomponente. Tabelle 5 zeigt, daß diese Abnahme des Minderertrages in der Versuchsanlage der Eidg. Technischen Hochschule nicht vorhanden ist: denn der Minderertrag, der in der Versuchsanlage der Eidg. Technischen Hochschule auf den "bestrahlten" Böden erhalten wurde, ist mindestens ebenso groß, wenn nicht noch größer, als im Freilandversuch. Damit dürfte der Einwand der Koinzidenz zweier verschiedenartiger Faktoren abgelehnt sein.

Als dritte (und letzte) Möglichkeit bleibt die — in mündlichen Diskussionen geäußerte — These, daß die Erdstrahlen nicht das pflanzliche Wachstum selbst beeinflussen, sondern den Boden. Damit wäre die ur-

sprüngliche, in der Erdstrahlenliteratur wiederholt verteidigte Plattform, wonach den Erdstrahlen eine unmittelbare pflanzenpathogene Wirkung zukomme, verlassen zu gunsten einer neuen Auffassung, wonach die Erdstrahlen nicht unmittelbar das pflanzliche Wachstum, sondern die kulturelle Eignung des Bodens schädigen, und dadurch das Pflanzenwachstum erst sekundär in Mitleidenschaft ziehen. Welcher Art dieser hemmende Einfluß der Erdstrahlen auf die kulturellen Eigenschaften des Bodens sein könnte, steht hier vorläufig nicht zur Diskussion; wir möchten aber zugeben, daß wir einen derartigen Einfluß theoretisch nicht von vornherein für unmöglich halten; denken wir nur an das Cholesterinproblem in der Vitaminforschung.

Will man annehmen, daß die Erdstrahlen die kulturellen Eigenschaften der Ackerkrume geschädigt haben, so dürfte man wahrscheinlich vermuten, daß diese Schädigung allmählich zurückgehen würde, wenn die Ackerkrume aus dem Strahlungsgebiet entfernt wird; man dürfte also vielleicht erwarten, daß der "bestrahlte" Boden, wenn er in die strahlungsfreie Versuchsanlage der Eidg. Technischen Hochschule gebracht wird, sich allmählich regeneriert. Dies tat er jedoch während des Sommers 1934 nicht: die Mindererträge bei Cosmeen, Senf und Hafer sind ja im Laboratoriumsversuch wenn möglich noch größer gewesen als auf dem freien Felde: eine Regeneration des Bodens war demnach nicht zu erkennen, sondern die "Nachwirkung" blieb im vollen Umfange bestehen.

Ein Entscheid über diese Frage kann nur durch das unmittelbare Experiment erbracht werden; dieses müßte wohl in der Weise angeordnet sein, daß man unbestrahlte Erde in das Strahlungsgebiet bringt und nunmehr das Verhalten der Anpflanzungen auf "unbestrahlt" und auf "bestrahlt" verfolgt. Dies werden wir, wenn möglich, im Laufe des Jahres 1935 auf dem Zollikerberg zu tun versuchen.

Nicht ganz so einfach scheinen die Verhältnisse bei Tagetes mexicana zu liegen. Diese Pflanze hat ja im Feldversuch auf dem Zollikerberg in beiden Versuchsserien auf den bestrahlten Parzellen einen Mehrertrag gegenüber den unbestrahlten Parallelen geliefert (welcher Mehrertrag freilich nur in der westlichen Serie rechnerisch sichergestellt ist), und sie scheint demnach durch die Erdstrahlen in ihrem Wachstum stimuliert worden zu sein. Der Laboratoriumsversuch bestätigt dieses Ergebnis insofern, als auch in der Versuchsanlage an der Eidg. Technischen Hochschule der bestrahlte Boden nicht den ungünstigen Einfluß auf das Wachstum der Tagetes-Individuen ausübte, den er bei Cosmeen, Senf und Hafer hervorrief. Dagegen wird man nicht sagen dürfen, daß der bestrahlte Boden im Laboratoriumsversuch einen günstigen Einfluß auf das Wachstum der Tagetes-Individuen ausgeübt habe (wie dies bei den Feldversuchen der Fall war). Freilich liegen die Differenzen sowohl beim Grüngewicht als

beim Trockensubstanzertrag auf der positiven Seite; sie betragen jedoch in beiden Fällen nur einen Bruchteil ihres mittleren Fehlers: wüßten wir von gar nichts, so würden wir sagen, es bestehe bei den Tagetes-Laboratoriumsversuchen kein Unterschied zwischen "bestrahlter" und "nicht bestrahlter" Erde und die Differenzen von 2,6 bzw. 0,1 g beruhten nur auf einer Zufälligkeit.

Vom Standpunkt der Anhänger der unmittelbaren Erdstrahlenwirkung aus gesehen wird man dieses Ergebnis als eine Bestätigung ihrer Auffassung deuten: auf dem Zollikerberg, wo die Erdstrahlen unmittelbar einwirken konnten, haben wir bei Tagetes in der bestrahlten Zone einen Mehrertrag erhalten, in der Versuchsanlage der Eidg. Technischen Hochschule, wo keine Erdstrahlen vorhanden sind, besteht dagegen zwischen der Erde aus der Strahlungs- und aus der unbestrahlten Zone kein Unterschied. Wir glauben nicht, daß man aus fünf Versuchsgruppen die einzige, die im gewünschten Sinne ausfiel, herausgreifen und verselbständigen darf; sondern man wird, wenn dereinst nach Abschluß aller Versuche ein Urteil über das Erdstrahlenproblem gesprochen werden soll, die gesamte Sachlage im Auge behalten müssen. Immerhin wird man jetzt schon sagen dürfen: falls wirklich eine unmittelbare Einwirkung der Erdstrahlen auf das Wachstum von Tagetes mexicana besteht, so ist jedenfalls diese Einwirkung nicht im pathogenen Sinne gerichtet (wie dies den Erdstrahlen meistens zugeschrieben wird), sondern in einem fördernden, wachstumsstimulierenden Sinne. Wir gedenken, die Versuche mit Tagetes im Jahre 1935 zu wiederholen.

Bei den Setzzwiebeln endlich, die im Feldversuch aus dem Zollikerberg nicht ein eindeutiges Ergebnis geliefert hatten (die Unterschiede zwischen "bestrahlt" und "unbestrahlt" lagen meistens im Bereich des mittleren Fehlers), ergaben die Topfversuche einen eindeutigen, rechnerisch sowohl für das Grün- als für das Trockengewicht sichergestellten Minderertrag der "bestrahlten" Serie gegenüber "nicht bestrahlt". Die methodischen Vorteile des Vegetationsversuches mit seiner egalisierten Erde und seinen ausgeglichenen äußeren Bedingungen kommen erst bei den methodisch schwierigen Kulturen, wie Setzzwiebeln es sind (wegen der leicht auftretenden großen individuellen Schwankungen), voll zur Geltung.

Zum Schluß können wir den vorliegenden ersten Versuchsbericht über die pflanzenpathogene Wirkung der Erdstrahlen wie folgt zusammenfassen:

1. Die Beobachtungen, daß in bestimmten Streifen auf dem Zollikerberg Wachstumsstörungen bei verschiedenen Kulturen auftreten, konnte durch die Anbauversuche des Jahres 1934 im wesentlichen bestätigt werden. Rechnerisch einwandfreie Mindererträge wurden festgestellt bei Cosmeen,

Senf und Hafer; rechnerisch einwandfreie Mehrerträge wurden festgestellt bei Tagetes mexicana; bei den Setzzwiebeln liegen die Ergebnisse im Bereich des mittleren Fehlers, neigen jedoch auf die Seite der Mindererträge hin.

- 2. Für den Bereich unseres Versuchslandes wurde festgestellt, daß diese Zone der Wachstumsabweichungen sich tatsächlich im wesentlichen deckt mit der Zone, die von einem Rutengänger als Erdstrahlenzone in den Katasterplan eingezeichnet worden war.
- 3. Erde aus der "bestrahlten" Zone und aus dem unmittelbar anstoßenden "nicht bestrahlten" Gebiet, die in die strahlungsfreie Versuchsanlage der Eidg. Technischen Hochschule nach Zürich gebracht worden war, lieferte dort bei vier von fünf verwendeten Kulturen. nämlich bei Cosmeen, Senf. Hafer und Setzzwiebeln, mindestens ebensogroße, zumeist aber noch größere Ausschläge zwischen "bestrahlt" und "nicht bestrahlt" wie auf dem freien Felde. Einzig Tagetes mexicana fügt sich diesem Rahmen nicht ein: sie lieferte im Feldversuch auf der bestrahlten Zone einen Mehrertrag gegenüber unbestrahlt, wogegen im Topfversuch zwischen "bestrahlter" und "nicht bestrahlter" Erde kein Unterschied zu beobachten war.
- 4. Die Vermutung ist nicht von der Hand zu weisen, daß die auf dem Zöllikerberg beobachteten Wachstumsabweichungen nicht unmittelbar durch Erdstrahlen hervorgerufen wurden, sondern durch Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung des Bodens; sie soll, soweit möglich, durch Versuche weiter verfolgt werden.

## Institute of Phytopathology, Faculty of Agriculture. Sofia, Bulgaria.

## Old and new virus diseases of trees and shrubs.

By

#### D. Atanasoff.

With 17 Figures.

#### Introduction.

In plant pathology the last twenty years are characterized by numerous and extensive studies of virus diseases of plants. While the virus diseases of herbaceous plants have received much attention and most plant pathologists and even growers are fully familiar with them, the virus diseases of trees and shrubs, with a few exceptions, are little understood and generally unknown. The very existence of many of them is not even suspected although some of them have been recorded during the last two hundred years.

"When as much search has been made for such diseases in the forest as has been made in the fields, we may find plenty of them." (Hartley and Haasis, 33).

The object of this paper will be to review briefly the older records on virus diseases of trees and shrubs and to describe several new virus diseases of trees and shrubs.

No mention will be made here of the well known virus diseases of some trees and shrubs, such as Spike disease of Sandal Wood (Santalum album L.), the virus disease of Malvaceae, the different virus diseases of peach, the virus diseases of stone and pome fruits (16), the virus diseases of rose, raspberry, currant, cranberry, grape vine, etc.

The literature on those diseases is quite extensive and is listed in the author's bibliography on virus diseases of plants (5).

Some of the oldest known records on virus diseases of plants deal with virus diseases of trees and shrubs. Excluding the potato virus diseases it is only in relatively recent years that the virus diseases of herbaceous plants have been recognized as such.

What appears to be the oldest known description of a plant virus disease which apparently applies to bitter-pit of apples is cited by McAlpine in his classical work (45) on bitter-pit. McAlpine writes of it: "Richard Neckham, a prolific writer who flourished about the

D. Atanasoff:

middle of the twelfth century, mentions what was then called a serious disorder of ye apple which is like unto a blister drying up under the skin and giveth ye fruit a taste that is bitter and unwholesome to the palate'—a condition much akin to the bitter-pit of the present day."

Towards the end of the 17th century, as far as is known, the infectious nature of the Jasmine variegation was observed for the first time. For over one hundred and fifty years this has been one of the most widely and generally known infectious chlorosis of plants. Gradually it fell into complete oblivion and has not been described or mentioned during the last forty years. The author has been looking in vain for many years to see a variegated Jasmine. In August 1934, however, he located in the Sofia Forest Nursery what seems to be a variegated Jasmine.

The second widely known infectious chlorosis of woody plants is the infectious variegation of Abutilon which was imported from the East Indies during 1868 by Mr. Veitch and Son of London (50).

These two very striking examples of virus diseases have been used in the past as a proof that plants also possess a circulatory system like animals. Seeing that the variegation spreads in all cases from the variegated scion to the normal stocks, the early botanists and horticulturists saw in this a proof that plants have a circulatory system. For instance Lawrence (42), one of the early students of Jasmine mosaic, in 1715 describing the communicability of Jasmine variegation, states: "This discovery undoubtedly proves the circulation of the sap". Blair (12) in 1719 also sees in the transmissibility of the Jasmine variegation a proof of the circulation of plant sap. He writes of it: "The inoculating of a striped bud into a plain stock, and the consequence that the stripe or variegation shall be seen in a few years, over all the shrub above and below the graft, is a full demonstration of this circulation of the sap. This was first observed by Mr. Wats at Kensington, about 18 years ago. This not only proves an ascent and descent of the sap in the same trunks, but also that it circulates throughout the whole plant to a great distance: for modestly speaking, there appeared this year stripes upon leaves not less than twelve feet distant from the place where it was engrafted".

The early students of infectious variegation not only were sure that it spreads with the sap from the diseased scion to the normal stock but considered it definitely as a disease. For instance Miller (46) writes in 1776: "Holzige Stauden und Bäume kann man scheckigt machen wenn man sie mit einem Aug oder Pfropfreiss einer scheckigten Pflanze oculiret oder pfropfet; und sollte auch gleich das Aug nicht begleiben, so theilet es doch öffters seine gueldene Mischung dem Safft des Baumes mit, in welchem man es oculiret, sollte es auch nur acht oder zehn Tage frisch bleiben, so daß man bald darauf in den zunächst daran stehenden Blaettern

solches gar wohl wahrnehmen konnte, und nachgehends der größte Theil des Baumes scheckigt geworden . . . Es ist aber ganz klar, daß diese Streife von einer Schwäche der Pflanzen entstehen . . . Wenn die Pflanzen solchergestalt die Farbe ihrer Blätter verändern, sie nicht mehr so groß, als vorher werden und auch die Kälte nicht mehr so wohl vertragen können".

Erasmus Darwin (25) in 1800 discussing the infectious variegation of trees and shrubs writes: "This has been ascribed to the absorption of some infectious matter from the inoculated bud, which propagated a similar disease to the whole tree; and thence been used as an argument in favour of a vegetable circulation of juises".

Moretti in 1831 (48) expressed a similar opinion. According to him the mottling of plants is the result of a mixing of pathogenic saps which is propagated by material inoculation. Noisette in 1835 confirmed (53) the older observations regarding the infectiousness of variegation and stated that the grafting of variegated plants on normal ones acts exactly as the inoculation of animals. Gärtner in 1849 opposing (31) the then widely spread opinion that the graft can materially influence and change the properties of the stock and vice versa pointed out that in the cases where apparently the scion transmits its characters to the stock as in the variegated Jasminium officinale or Oleander, we have to deal with the transmission of a disease of the sap and cell tissues from the scion to the stock. The here so clearly stated infectious nature of variegation apparently was not generally accepted for many years afterwards. As late as 1889 and even later articles and letters printed in the Gardeners' Chronicle continued to consider the infectious variegation of plants as a proof that the scion exerts an influence upon the stock.

Morren in 1869 discussing (50) his graft infections with Abutilon thompsoni stated quite definitely that: "Il est incontestable que la panachure est la manifestation d'un état maladif".

Charles Darwin discussing (24) the infectious variegation of plants also writes: "Many authors consider variegation as the result of disease; and the forgoing cases may be looked at as the direct result of the inoculation of a disease or some weakness. This has been almost proved to be the case by Morren in the excellent paper just referred to, who shows that even a leaf inserted by its footstock into the bark of the stock is sufficient to communicate variegation to it, though the leaf soon perishes".

### Description of Diseases.

After the preceding short general discussion will be reviewed briefly below the literature on virus diseases of trees and shrubs and several Lew virus diseases observed and studied by the author during the last 200 D. Atanasoff:

two years will be described. Each will be treated separately. The host plants are arranged according to the natural order of families.

#### I. Salicaceae.

Populus balsamifera. — Canadian poplar mosaic. — Canadian poplars growing in various parts of Bulgaria show during the first part of the summer very distinct mosaic symptoms, characterized by leaf mottling. The type of mottling resembles very much the leaf mottling of young pear trees described by the author recently (6) as leaf symptoms of bitter-



Fig. 1.

Leaf of Canadian poplar showing faint symptoms of mosaic.

pit. The leaves of infected poplar trees show light green blotches scattered over the leaf blade and usually extending along the veins. In Fig. 1 is shown such a leaf, which unfortunately does not show so distinctly the mottling as the leaves of infected trees usually do. The leaf mottling of Canadian poplars is so typical that it alone is a convincing proof of its virus nature. The older leaves of the branches showing leaf mottling gradually become yellow and begin to die from the periphery taking on a light brown color. Such leaves soon become ruptured and fall prematurely. During the summer while the healthy trees do not show as yet any vellow leaves, the infected ones show a considerable number of such leaves. During the latter part of the summer the mottling of the leaves becomes more or

less maskd and may disappear completely. But even then the infected trees are characterized by the presence of yellow leaves with necrotic spots and broken necrotic periphery. Trees with mottled leaves have often been seen standing near perfectly healthy trees. Infected trees are characterized also by a slower growth and smaller size than the neighbouring healthy trees of the same age.

#### II. Betulaceae.

- 1. Carpinus. Horn-beam variegation. Morren (49) in 1865 discussing the heredity of variegation writes that according to horticulturists horn-beam trees with variegated leaves always degenerate when grafted. It is not certain from his description that this is a virus disease.
- 2. Corylus. Hazelnut mosaic. Hazelnut mosaic was observed by the author for the first time on July 15, 1934 along the road from the Rilo Monastery to St. Lucas' Chapel in the Rilo Mountains at an altitude

of about 1400 m above the sea level. Some shrubs show a very typical mosaic mottling of the leaves much resembling that of elm mosaic (Fig. 2). Other shrubs show clearing of the veins on some branches and mosaic leaf mottling on others. The leaf mottling consists of light green blotches, more or less angular or round, often united to form a net.

#### III. Fagaceae.

1. Fagus. Beech mottle leaf. Rankin (57) in 1928 described briefly a mottling of beech leaves observed by him in the vicinity of Philadelphia. "The incidence and severity of the disease do not appear to be correlated with site, age, ground water supply, or any atmospheric condition. No fungus or insect which seemed to have any causal relation to the disease has been observed above ground."

"Mottle leaf is apparent when the leaves develop in the spring. Yellow-green to whitish areas of indefinite outline are present, and these areas often die and turn brown. Seedlings and suckers in full shade often show severe symptoms."

This leaf mottling of beech resembles closely that of poplar, observed by the author in Bulgaria and deserves to be studied further.

2. Castanea. Chestnut variegation. Morren (49) in 1865 wrote that chestnut with variegated leaves always degenerates when grafted. Hertzsch in 1927 and 1930 stated (35, 36) that the chestnut is also subject to infectious variegation.

#### IV. Urticaceae.

1. Ulmus --- Elm mosaic. — Morren (49) in 1865 writes that the American elm with variegated leaves always degenerates when grafted.

Swailes (68) in 1887 discussing the influence of scion on stock writes: "Several young English Elms (of the campestris section) were grafted in the spring with the new variegated variety, Louis Van Houtte (Ulmus campestris, Van Houtte), one of which, after lingering some time, perished with the drought. The stock has now thrown out several shoots, one of which, on the opposite side to which the scion was placed, is identical with the variety with which the stock was grafted".

Rankin (58) in 1931 described as a new disease the Elm mosaic which he observed on the Asiatic elm (Ulmus pumila) trees in a nursery block near Geneva, New York. The leaves of infected trees showed a conspicuous mottling, the light areas becoming more yellowish as the season advanced. In some cases the first leaves were more mottled than the later ones, while in others the apical leaves of the twigs became entirely yellow. Rankin observed in the same stock two Scotch elms (Ulmus glabra) which showed such pronounced distortion of the foliage that the trees were barely recognized as elms. The leaves were ragged

and streaked with light green dashes or long lines here and there. These symptoms were considered by Rankin to be strongly suggestive of a virus disease. A similar condition has been observed also on elms in the Hudson Valley and in New Jersey.

In September 1934 the author saw the first and the only elm tree he has seen so far, infected with mosaic. This tree is located in the Sofia State Forest Nursery. For some unknown reasons it had been cut

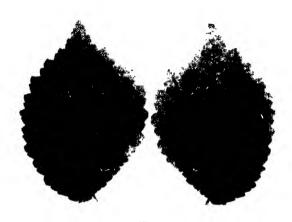


Fig. 2. Elm leaves showing symptoms of mosaic.

back to the ground and had formed a large number of young and vigorously growing shoots. The leaves of all the shoots were very nicely mottled (Fig. 2). The pattern of mottling resembled closely that of the common tobacco mosaic. The light green blotches often have an angular shape, especially where they are limited by the leaf veins. Their number, small at first, gradually increases. The blotches soon unite and cover a large part or the whole of

the leaf. Such leaves take on a lighter green and finally a yellow color, on them soon appear necrotic spots and they begin to fall off prematurely.

2. Morus. Mulberry curl. Ever since 1886 in Japan it has been known that the mulberry is subject to a disease know under the name "Ishikubyo" or "Shikuyobyo". It has much in common with the virus diseases of plants.

It was Ichitkawa (38) who in 1896 first discussed the similarity of mulberry dwarf to peach yellows in regard to their symptoms and cause. Miyoshi (47) in 1901, Shibata (63) in 1903 and Snzuki (64, 66) in 1900 and 1902 published important papers on this disease.

The first symptoms of mulberry curl appear usually on the young shoots coming directly from the stem. The top leaves become first curled and show the effect of the disease. All subsequently formed leaves also show the symptoms of the disease. The affected leaves become chlorotic or dirty green. The disease arrests the development of infected leaves and shoots and finally kills them completely. Occasionally the leaves retain their normal color. In severe cases all leaves of an infected tree become curled and chlorotic during the same season. In most cases, however, at first only the leaves on the top of shoots show the symptoms of the disease. It then spreads gradually until the whole plant becomes affected

and dies. The twigs of the affected trees are very thin and form numerous branches and leaves. The affected trees are stunted with dwarfed branches and curled leaves. The roots of the affected trees usually become also affected. This takes place, however, after the symptoms of the disease become apparent on the foliage and the branches. The affected leaves contain much less N and much more oxydase, diastase, and peroxydase and higher acid reaction than the healthy leaves. The transportation of starch is interfered with and the affected leaves always contain considerable quantities of starch. Miyoshi (47) finds that the phloem tissues of affected plants are not sufficiently developed and considers it as the cause of starch accumulation in the leaves.

Once the disease appears on a single tree in an orchard it spreads gradually to all trees. It has spread all over Japan and is threatening, according to Suzuki (66), the very existence of the silk worm culture.

The bacteriological investigation of the disease gave negative results.

Not all mulberry trees are equally susceptible to the disease. Most susceptible are the rapidly growing varieties with tender and abundant foliage, while those with hard foliage and also the slow-growing varieties are less susceptible. The disease is most common on trees cut near or only 1 foot above the ground, while the high-cut trees are always less affected. In the mountain regions the disease is almost unknown. It is most severe in the regions best suited to the mulberry. In regions where on account of the great amount of snow or other climatic conditions or where, according to an ancient custom the trees are not cut at all, the disease is wholly unknown.

The mulberry trees remain free from the disease when pruned early in the spring or late in the fall. They fall sick only when cut during the summer, i. e. during the period of rapid growth. Luxuriantly growing trees are more susceptible to the disease than are slowly growing ones.

Suzuki is of the opinion that the primary cause of the disease lies in the continuous pruning, cutting down of the trees, or the constant defoliation of the same during the growing period.

Affected branches recover, according to Suzuki when grafted on healthy stems or when rooted by layerage.

Zaprometoff (74) in 1932 on the other hand observed the mulberry curl disease in ('entral Asia on young trees growing from cuttings imported from Japan. He reports that these trees showed all the incipient symptoms of mulberry dwarf as it is known in Japan. Although the disease needs more study, it shows nevertheless, some striking symptoms which are very characteristic of the virus diseases.

In connection with the above it deserves to be mentioned here that several years ago, while working at the author's laboratory, Mr. A. Christoff infected successfully young vigorously growing mulberry trees with a

tobacco ring-spot virus. The top leaves of the infected trees were irregularly developed, curled and mottled. The mottling consisted of light green to yellow green, large, irregular blotches. The inability of Suzuki (66)



Fig. 3.
Fig leaf showing symptoms of mosaic.

to transmit the disease by budding is not a convincing proof that this disease is not of virus nature.

3. Ficus. Fig mosaic. — The fig mosaic was seen for the first time by Swingle (68). Condit and Horne (23) in 1933 published the first detailed description of fig mosaic and showed that it is a virus disease. "Fig mosaic manifests itself both on the leaves and on the fruits. On the leaves the mosaic spots are sometimes sharply delineated, the light yellow color of the affected areas contrasting strongly with the normal green color of the foliage (Fig 3). The borders of mosaic spots are, however, usually indefinite, their light color blending gradually with the dark green of healthy tissues. In some leaves, the

spots are of more or less uniform size, small, and densely scattered over the surface. In other cases they are of various sizes, of indefinite outline and appearing as irregular blotches of light green diffused widely through-

out the blade of the leaf with no relation whatever to the position of the leaf veins. Mosaic spots often are bordered by a rust-colored band, evidently caused by the death of epidermal or subepidermal cells. In some cases certain twigs bear nothing but malformed leaves. In other cases both malformed and normal leaves are on the same twig". On the fruits also occur mosaic spots the presence of which sometimes leads to the premature dropping of the figs.

Some fig varieties are highly susceptible, others almost immune to the disease. On the more susceptible, as the White Ischia and Celeste, the mosaic causes premature shedding of fruit. "The Chekei Injir, a Smirna



Fig. 4.
Fig leaf showing symptoms of mosaic.

type of fig, is very susceptible, the surface of the fruit being spotted with light green aureoles which later become rusty... Deformation of small green figs of certain varieties, such as Svetane, is attributed to the presence of mosaic".

Fig mosaic is spread by cuttings. It can be transmitted by grafting. Condit and Horne suspect that the mite (*Eriophyes fici* Ewing) is a vector of fig mosaic.

Fig mosaic was seen by the author in Bulgaria for the first time in 1933 at the Pavlovo State Nursery. During the summer of 1934 more cases were observed in various parts of Bulgaria. In Bulgaria the fig is killed by the low winter temperature and is not generally grown, but it is found occasionally in the house gardens of south Bulgaria.

#### V. Pittosporaceae.

1. Pittosporum variegation. — Carrière (21) in 1887 described the following case as an evidence that the scion often exerts certain influences upon the stock: A scion of *Pittosporum tobira variegatum*, a heavily and elegantly variegated plant, grafted on a green plant of the same species failed to grow. Below the point of grafting, however, soon developed a vigorous shoot with very pronounced yellow variegation which fully resembled the variegated variety used as scion.

#### VI. Rosaceae.

- 1. Holodiscus discolor. Ocean spray witches' broom. Zeller (75) in 1930 gave a short description of Holodiscus witches' broom, which he extended in 1931 (76). This disease has been observed since 1925 in Oregon and Washington. The infected plants are characterized by shortening of the internodes and the thickening of the stems. "The stems have little tendency to branch so there are usually no blossoms. There is a multiplication of buds at each node. These produce very spindly short laterals. Leaves are small and turn a bronzy red early in the summer." The disease is easily transfered by budding diseased nodes into healthy stems. Aphis spiraeae Schout also transmits the disease from infected to healthy plants.
- 2. Pyrus aucuparia. Mountain Ash variegation. A correspondent of the Gardeners' Chronicle (3) in 1881 wrote to his editors: "We were much struck with a circumstance in a variegation of foliage: a considerable number of common Mountain Ash budded (6 to 7 feet from the ground) with the variegated weeping variety came away all right, not only so but all shoots underneath the buds were also variegated":

Baur (9) in 1907 also showed that the variegation of Sorbus (Pirus) aucuparia fol. luteo variegatis can easily be transmitted by grafting.

Kränzlin (40) in 1908 studied the anatomy and chlorophyll formation of the infectious variegation of Mountain Ash and gave a detailed description of the disease. The variegated mountain ash is listed in the horticultural catalogues under the name *Pyrus aucuparia* fol. *luteo variegatis*. The leaves of infected trees have at first yellow teeth, later white ones.

On heavily infected leaves not only the teeth become yellow but also the area connecting the teeth at a depth of 1.5 mm. The more severely affected leaves have not well defined yellow zones but become mottled with yellow spots. On some leaves the yellow tissues are limited only to the tips of the teeth. In other cases there is seen a clearing of the veins or along the main veins there may run a yellow band 2 mm wide. The chlorotic tissues gradually become white and finally brown.

Hertzsch in 1927 (35) and 1930 (36) also mentions briefly the infectious variegation of Mountain ash.

#### VII. Leguminosae.

1. Labornum rulgare. Golden-Chain variegation. In 1873 in the Gardeners Chronicle (1) a case of infectious variegation on Laburnum



Fig. 5.
Laburnum vulgare leaf showing symptoms
of variegation.

was reported. A bud of the variegated Laburnum "inserted on the green-stemmed kind died, but the yellow variety has since broken out both above and below the place of insertion".

Masters (44) in 1877 grafted a few scions of golden Laburnum on the common Laburnum. "Five or six of the scions died, the stocks starting freely from 1 inch to 2 inches below the bases of the dead scions. These stocks were allowed to grow all the season undisturbed, the branches next to

the dead scions having made from 1 foot to 3 feet of growth. The uppermost branches of three out of the five stocks now have golden yellow bark and leaves exactly similar to the golden Laburnum."

Lindemuth (43) in 1897 reported also that Laburnum vulgare became variegated when grafted with variegated Laburnum vulgare (Laburnum Chrysophyllum Späth).

Baur (8, 9) in 1906 and 1907 obtained similar results and showed that this variegation passes also to Cytisus hirsutus. Hertzsch (35, 36) in 1927 and 1930 repeated with equal results Lindemuth's experiments and extended them also with success to Cytisus hirsutus.

During the summer of 1934 the author saw a variegated Laburnum vulgare tree in the nursery of the City of Sofia. It has very beautifully variegated leaves. The leaves are mottled with lemon yellow spots and streaks. The spots are small and scattered between the veins. The streaks

are very prominent and always run along the main lateral veins (Fig 5). Gradually some of the leaves take on a yellow color.

2. Robinia pseudacacia — Black locust witches broom. —

Waters (73) in 1898 described briefly the witches. broom of black locust' Hartley and Haasis (33) in 1929 gave a new description of locust witches' broom and suggested that it presumably is caused by a virus. The infected trees are characterized by broom formation. From some points of the stems, top branches or shoots coming directly from the roots, there appear a large number of

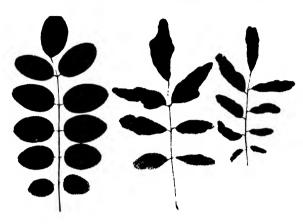


Fig. 6.
Black locust leaves showing symptoms of mosaic.

spindly many branched shoots with reduced leaves. On the stems are formed cushions 4 5 cm in diameter and approximately 1 cm thick. The cushions bear groups of buds and tiny leaves on the surface. They

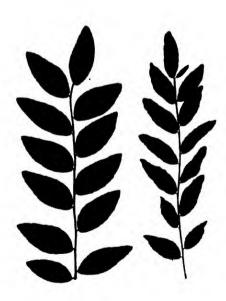


Fig. 7.

Honey locust leaf showing symptoms of mosaic.

represent extreme forms of brooms. On older trees branches which bear brooms die back from the tips; the brooms themselves are also shortlived.

The disease is seen frequently on sprouts arising from the roots and stumps of trees. In some cases the entire sprout is a broom, making a low, tiny-leaved plant. More often the brooms develop terminally or in axils of normal leaves near the top of the sprout. The disease is apparently rare on large trees but it often occurs on sprouts following cutting operations.

Jackson and Hartley (34, 39) in 1933 showed experimentally that the disease can be transmitted by grafting. Symptoms appear five months after grafting. One of the infected trees apparently recovered. For several years the author has been observing and studying on the grounds of the Faculty of Agriculture a virus disease of black locust and honey locust (Gleditschia triacanthos), characterized by distinct mottling and pronounced deformation of the foliage (Fig 6). No brooms have been seen so far. Fig. 7 gives a good idea of the leaf symptoms of honey locust as seen in Bulgaria.

#### VIII. Rutaceae.

1. Ptelea variegation. — Reuter (59) in 1870 budded Ptelea triflora fol. aur. variegatis on common green Ptelea plants. The buds failed but several months later the budded green Ptelea plants became richly variegated. The dark green leaflets of the variegated plants show yellow spots or blotches in varying degrees.

 $K\,\text{r\"{a}}\,\text{n}\,\text{z}\,\text{lin}$  (40, 41) in 1908 also mentions the existence of infectious variegation on Ptelea.

2. Citrus mosaic. — For over 30 years there has been known a lemon disease characterized by mottling of the leaves. It has been generally considered as a physiological disease (Atanasoff, 5). At the same time, however, evidence has been presented that the lemon tree is also subject to one or more infectious mottlings of the foliage (30).

Trabut (71) in 1913 first demonstrated the existence of an infectious leaf mottling (chlorosis) of citrus. He observed it on Washington Navel oranges originating from England and on Siletta oranges produced from Australian scions. This leaf chlorosis, he established, is transmitted by grafting. According to Trabut the disease is caused by a phytotoxine and it resembles the infectious chlorosis of the Malvaceae.

Doidge (26) in 1924 suggested, among other hypotheses, that the ring blotches of Citrus in South Africa may be a virus disease.

Petri (55) in 1931 gave detailed description of a marble-like mottling of bitter orange (Citrus vulgaris) observed in a grove near Messina, Sicily in 1930 and in the neighbouring groves a year later. The leaves of infected trees or branches are marked by white, pale green or yellow irregular areas. In some leaves, especially near the apex of the leaf, the discolored area extended across the blade, leaving narrow green bands along the midrib and the base of the secondary veins. Some of the leaves are asymetrically developed and blistered. Occasionally isolated leaves do not show the mottling. Usually all leaves on a twig or on several twigs are affected. Sweet orange (Citrus sinensis), lemon, and mandarin (Citrus nobilis var. deliciosa) remained unaffected even when standing in close proximity to affected sour oranges. Nearly all the mottled leaves are usually attacked by the black citrus aphid, Toxoptera aurantii. The affected leaves do not show any other signs of the presence of injurious organisms.

Petri (55) supposes that the disease is infectious and that it is caused by an agent which is apparently spread by *Toxoptera aurantii* Boyer. In another paper of the same year Petri (56) describes a method devised by him for injecting mosaic virus into citrus leaves. This shows that he considers the above disease as being of virus nature.

Fawcett (28) in 1933 noticed for the first time that the young leaves of citrus trees affected with psorosis show a clearing of small areas giving mosaic-like appearance. "These clear regions seem to disappear as soon as the leaf approaches maturity, but in some cases rounded, clear spots are formed on some of the older leaves. These spots on older leaves vary much in size, from mere dots to areas 10 to 15 mm in diameter and often are accompanied by a slightly raised brown surface, occasionally in the form of rings... The transmission of the disease with its previously known scaly symptoms on the bark and these new symptoms on the leaves has been demonstrated by budding and root cuttings". In 1934 Fawcett (29) published a more detailed paper on the same subject. The mottling of the leaves is found most distinctly on young leaves of rapidly growing shoots. On mature leaves are seen light-colored, translucent spots often with raised corky centers or with raised rings. Frequently, raised spots are found on the bark of water sprouts. Circular bands or furrows on the fruit have occasionally been seen also on the fruits from psorous trees. Besides the symptoms on the leaves and fruit which are not always present, the infected trees always show bark symptoms. The first evidence of the disease on the bark is the appearance either of small scales of bark pushed up from the surface and attached by the edge, or small pimple-like pustules or eruptions. These usually start at some small localized region and enlarge slowly to form large areas. Frequently there appear a number of small areas which enlarge and merge to form large areas encircling the trunk or a large limb in one season. Drops of gum are later on exuded on the affected bark. The observation of the mosaic-like effect on the leaves, together with the transmission of the disease by budding and by rooting shoots, suggested to Fawcett a virus origin for the disease.

Bitancourt and Grillo (11) in 1934 described what they call the "Zonate chlorosis" of citrus. This disease attacks sweet oranges (Citrus sinensis), lemon (Citrus limonia) and grape fruit (Citrus paradisi) in Sao Paulo, Rio de Janeiro and the Districto Federal, Brazil. The symptoms of the disease resemble those of tobacco ring-spot and consist in alternating light and dark parallel zones or stripes on the leaves, arranged in elliptical rings or irregular lines symmetrically disposed round the midrib. The green fruits show angular and circular chlorotic areas and the ripe ones dark brown, slightly depressed irregular marking, sometimes ring- or arc-shaped.

The cause of the disease, which resembles that described by Doidge (27) under the name "ring blotch" is considered by the authors as due, very possible, to a virus infection.

Although the young leaves of citrus trees with psorosis occasionally also show rings or arcs, this disease apparently differs from those observed in South Africa und Brazil, so that it can be taken for granted that the citrus is subject to more than one virus disease. A number of other citrus diseases, the nature of which is not well understood at present, may also prove to be of virus nature.

#### IX. Aquifoliaceae.

1. Hex. Holly variegation. Blair (12) in 1719, writing of the communicability of Jasmine variegation reported the following: "Mr. Bridgman, gardener at Hertfort engrafted a Hedgehog slip into Holly: the graft died, but another variegation appeared afterwards below it, upon same stock."

Carrière (21) in 1887 grafted a variegated llex on a common llex. From the green stock there came a shoot about 20 cm. below the point of grafting which developed variegated leaves and subsequently took on all the characteristics of the scion.

#### X. Celastraceae.

1. Evonymus variegation. — Bouché (14, 15) in 1870 and 1871 showed that the variegation of Evonymus is infectious. Grafting two green Evonymus japonicus plants with two different yellow and white variegated varieties of the same species, he observed that the leaves formed on the two green stocks subsequently to the grafting, showed a whitish venation. Bouché considered this change in the leaf coloration as an infection by means of the sap of the variegated scions and the variegation itself as a disease. He adds that practically all variegated plants when grown on rich soil and under favorable conditions lose their variegation.

Baur (10) in 1908 repeated and confirmed Bouché's results regarding the infectious nature of *Evonymus* variegation.

There exists a number of variegated Evonymus japonicus varieties. Some of them have leaves with white or yellow periphery. They are not infectious. These varieties as well as the green varieties are characterized by yellow mottling of the central portion of the foliage. Grafted on green varieties they transmit the disease. The newly infected young and vigorously growing plants show yellow spots and streaks along the veins. On the other leaves these symptoms are visible only in transmitted light.

 $Rischkow\ (60-61)$  also observed the infectious variegation of  $\ensuremath{\textit{Evonymus}}.$ 

#### XI. Aceraceae.

1. Acer. — Maple mosaic. — Reuter (59) in 1870 budded 60 Arer platanoides stocks with Acer colchicum rubrum. The budding succeeded but the buds were killed during the winter. The following spring all leaves formed above the point of budding resembled fully those of Acer colchicum.

Syme (69) in 1877 wrote as follows: "In connection with this subject (the influence of the bud on the stock) I have a record of twenty instances which came under my notice last spring, in which the buds of Acer negundo variegatum, affected the stock on which they were growing, below as well as above the point of insertion. In each case there were several shoots disposed on all sides of the stem, with all their leaves

variegated somewhat in the way of the variety propagated, and many of these leaves I could not have distinguished from the others".

Carrière (21) in 1887 grafted a variegated Acer pseudoplatanus var. cuchlora on a green variety; the scion failed to join but there developed on the grafted sycamore stock a variegated shoot. The variegation, however, in this case was different from that of the scion.

The author observed during the summer of 1934 a very characteristic mosaic on seedlings of *Acer negando* in the Sofia Boris Park. The infected plants are characterized with mottled



Fig. 8.

Maple leaf showing symptoms of mosaic.

leaves. The leaves of these plants are peppered with very small more or less round light green spots. On some plants the spots are smaller than 1,5 mm in diameter and so numerous that they are difficult to distinguish and give a chlorotic appearance to the plants. On other plants at least some of the spots attain approximately 3 mm in diameter (Fig. 8). Several young plants showing the above symptoms were transferred to pots and set in the hot house. In order to prevent excessive transpiration the crown was cut down to the stem, so that no leaves remained on the plants. Several weeks later the plants formed new shoots and leaves. At first all the leaves came up perfectly normal, but after reaching their normal size they became mottled just like the leaves removed before the transplanting. This is true of many other virus diseases of trees including the virus disease of stone and pome fruits (7).

#### XII. Hippocastaneae.

1. Aesculus hippocastanum. — Horse-chestnut variegation. — House (37) in 1873 wrote: "Some 12 months ago my attention was called to a tree of rich golden foliage which far surpassed anything of the sort I have ever seen for richness of effect and color. On examination I found it to be a horse-chestnut, evidently diseased, from some cause in the soil or situation. I procured some buds in July last and worked them on some strong stocks at about 3 to 4 feet from the ground. A number of the buds have failed; but strange to say, many of the stocks have produced foliage exactly like the parent of the scion, though the buds themselves are dead . . . My opinion is that many of the buds had not vitality enough in them to keep them alive through the winter; but that during their short time of existence they imported the variegation to the stock . . . Another curious thing connected with the matter is that there is not the least trace of the variegation in the foliage of any one of the stocks below the incission made at the time of budding".

An anonymous writer signing himself M. B. (Probably Masters) from Invernece, writing in 1881 (3) of the transmissibility of Mountain Ash variegation, states: "We found the same in Horse-chestnut, and even in some instances where the buds failed, the foliage from the natural stock was variegated". Timpe (70) in 1906, grafting variegated According hippocastanum on normal green trees, the variegation appeared the following year on the neighbouring green shoots. These are the only two references on Horse-chestnut variegation known to the author.

#### XII. Rhamnaceae.

- 1. Zizyphus spike disease. Sastri and Narayana (62) in 1931 mention that Zizyphus ocnoplia is subject to a disease similar to the spike disease of Dodonea and Santalum.
- 2. Rhammus variegation. Carrière (21) in 1887 grafting a Rhamnus with narrow and elegantly white variegated leaves on a common Rhamnus; it failed to join, but on the grafted branch there developed later on a shoot at a distance of 8—10 cm from the grafting point. The leaves of the shoot were variegated like those of the scion and remained permanently variegated. Carrière considered this as a proof of the influence of the scion on the stock.

#### XIV. Passifloraceae.

Passiflora. - Passion tree variegation. — For over two hundred years it has been known that the passion tree is subject to an infectious variegation. Bradley (17, 19) in 1717 and 1726 reports that grafting a scion of the variegated passion tree on a green plant he observed that within 14 days there appeared yellow blotches on the leaves below and

above the grafting, in spite of the fact that the scion failed to grow together with the stock. Erasmus Darwin (25) reports the same case of which he writes: "Mr. Fairchild budded a passion tree whose leaves were spotted with yellow, into one which bears long fruits. The buds did not take, nevertheless in a fortnight yellow spots began to show themselves about three feet above the inoculation and in a short time afterwards yellow spots appeared on the shoot which came out of the ground from another part of the plant".

In 1875 in the Gardeners' Chronicle (2) was published a note on a paper read by Lemoine at the meeting of the Central Horticultural Society of France. In it it is stated that grafting scions of the variegated Passiflora quadrangularis aucubacfolia on stocks of Passiflora Raddina and Passiflora Impératrice Eugénie resulted in transmission of the variegation. When a scion of the green viticola (Tacsonia Buchanani) was grafted on the variegated Passiflora quadrangularis it also became variegated. Cuttings of variegated trees gave only variegated plants.

Noble (51, 52) in 1928 described as a virus disease the disease known as "woodiness" or "bullet" of Passion-fruit. The disease attacks Passiflora cdalis in New South Wales and is considered as a serious trouble. The fruits of affected trees are hard, woody, of a purplish-leaden color, and generally are small and deformed. The rind is abnormally thick, and the outer layers are often cracked and scaly. The fruits may show effects of the disease in the various stages of their development. Young fruits, when severely attacked, may fall prematurely. Diseased vines are stunted and sickly. The leaves are small, often puckered and deformed, especially those on the end shoots. Mature leaves become sprinkled with necrotic spots, especially between the veins. The disease can readily be transmitted with sap. As a control measure prompt removal of the infected vines and precautions against transmission by pruning and insects is recommended. Van der Biyl (72) in 1931 reported the occurrence of a virus disease on Passiflora sp. in South Africa.

#### XV. Cornaceae.

Cornus muss. — Cornel mosaic. — Late in September 1934 on the market of Sofia there appeared the first cornel fruits which are used here for the preparation of jams and other delicacies. The fruits of some shipments displayed some abnormalities resembling very much the fruit symptoms of stone fruit mosaic and especially those of some cherry varieties (7). A careful study of such cornel fruit showed a complete similarity to the fruit symptoms of the above mentioned disease (Fig. 9). Affected fruits ripen prematurely and show deep depressions without any rupturing of the skin. Underneath every depression the flesh of the fruit is necrotic. On the stones of affected fruits are plainly visible gray to black spots

D. Atanasoff:

which go deep into the stone. Although the author had no chance to see the plant from which the fruits had been taken, his long and intimate experience with the mosaic disease of stone fruits makes him feel sure that here we have to deal with a virus disease of cornel. Most fruit

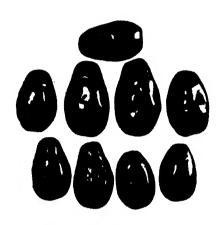


Fig. 9.
Cornel fruits showing symptoms of mosaic.

trees and even shrubs and vines when infected with virus diseases show some kind of deformation of the fruits and local necroses of the fruit flesh. Such is the case with apple (4), quince, plum, cherry, citrus, passion fruit, fig, grape vine, etc.

#### XVI. Ericaceae.

Rhododendron mosaic.—Pape (54) in 1931 reported briefly the occurrence of a mosaic disease on the Rhododendron. The leaves of affected plants show the typical mottling and blistering associated with mosaic in various other plants.

#### XVII. Oleaceae.

1. Fracinus. — Ash mosaic. — Bradley (18) in 1724 described the first case of infectious variegation on ash which he transmitted to normal green ash trees by grafting.

Syme (69) in 1877 wrote of the ash mosaic as follows: "Four years ago I had twenty-seven common ash stocks budded with Fraxinus americana aucubacfolia at a height varying from 2 to 4 feet from the ground. Nearly all united readily and looked well the following spring, when the majority of the buds separated and fell from the slices of bark that were inserted with them; only three pushed into the growth. At present they are all growing together as they did then, but two thirds of the number are more or less completely inoculated with the colouring matter of the variety propagated, below as well as above where they were budded, and on all parts of the plant. One interesting feature of these instances of inoculation is that the variegation of the leaves of the stock and variety propagated is the same or similar; but although such is the case with the ash, I cannot see that the specific character of the leaves of Fraxinus americana has been transferred to the leaves of the stock Fraxinus excelsior".

Charles Darwin (24) about the same time discussing the question of graft-hybrids, wrote of the ash mosaic: "Mr. Rivers, on the authority of a trustworthy friend, states that some buds of a golden-variegated ash

which were inserted into common ashes, all died except one; but the ashstocks were affected, and produced both above and below the point of insertion of the plates of bark bearing the dead buds, shoots which

bore variegated leaves. Mr. J. Anderson Henry has communicated to me a nearly similar case: Mr. Brown, of Perth, observed many years ago, in a Highland glen, an ashtree with yellow leaves. Buds taken from this tree were inserted into common ashes, which in consequence were affected, and produced the Blotched Breadalbane Ash. This variety has been propagated, and has preserved its character during the last fifty years. Weeping ashes, also, were budded on 'the affected stock, and became similarly variegated'.

Baur (9) in 1907 showed that the variegation of *Fraxinus pubescens ancubifolia* is also infectious.

Hertzsch (35) in 1927 also observed and described briefly the ash mosaic on *Fra*xinus pubescens aucubifolia.

The author observed in July 1933 at Gramada an ash tree with very small



Fig. 10.
Ash leaves showing symptoms of mosaic.

leaves and weak shoots which suggested a virus disease. The leaves were formed in small groups and showed chlorosis between the larger veins. Some branches were taken from this tree on May 3rd, 1934



Fig. 11.

Ash leaves. On the left one leaf showing advanced symptoms of mosaic. On the right a healthy leaf.

216 D. Atanasoff:

and the following day two buds from them were budded into a healthy and vigorously growing four years old ash tree. On June 5th of the same year the leaves of the budded branch showed very pronounced mottling (Fig. 10). The mottling consisted of large more or less angular light green or yellowish green blotches, which were seen all over the leaves, but mostly along the periphery. The leaves of the budded branch gradually took on a yellow color and fell prematurely while the leaves of the neighbouring branches were still dark green.



Fig. 12.
Lilac leaf showing symptoms of mosaic.

This result shows that the Gramada ash has been infected by mosaic disease.

Early in May 1934 the author located a second ash tree infected with mosaic. This tree stood in the garden of the Faculty of Agriculture and was surrounded by several Japanese cherries all of which showed severe symptoms of mosaic. The leaves of this ash tree were mottled. puckered and slightly deformed. The tree itself had a sickly appearance, had few branches, and a very open Early in July the leaves crown. took on an even more pronounced light green to yellow color, became necrotic around the periphery (Fig. 11) and began to fall prematurely. Early in August most of the leaves had

already fallen, while a healthy ash tree standing near by had still perfectly normal leaves.

2. Syringa vulgaris. — Lilac mosaic. — Some lilacs in the Sofia public parks and nurseries are infected with a virus disease characterized at first by mottling of the leaves and later by rolling and blighting of the same. The newly infected plants show very typical symptoms on the top leaves. The mosaic mottling, consisting of angular lighter green spots, is evident only on the upper side of the leaf blades (Fig. 12). The pattern of mottling seen on the upper side of the leaf blade is not the same as that on the lower side. Indeed on the lower side of the leaves are seen dull yellowish green blotches which are slightly elevated, but they do not always correspond to the blotches on the upper side of the leaves. Soon after the appearance of the mottling on the leaves, they begin to roll up and become very brittle (Fig. 13). At the same moment the yellowish green blotches on the lower side of the leaves become more

elevated and begin to get necrotic. With the advance of the leaf rolling the periphery of the leaves becomes more and more necrotic until the

largest part of the leaf dies. Such leaves have a blighted appearance and resemble completely the symptoms of the graft blight disease of lilacs described and studied by Chester (22). While the mosaic mottling is seen only on the young and vigorously growing leaves the rolling and blighting advances down to the otherwise normal leaves until a large part of the leaves of a plant become rolled and blighted. The top shoots of such plants are usually winter killed and dieback sets in.

3. S. vulgaris. — Lilac ring spot. — Besides the mosaic disease the lilac is subject also to a ring spot virus disease. This disease the author observed in the nursery on the Mincova Machala Farm at Boitchinovtsy, North Bulgaria. Here a large number of the lilacs were infected with ring spot. The leaves of the infected lilacs show plainly visible rings of lighter green tissues (Fig. 14). The rings may be small and very numerous: in such cases they unite and give to the leaves a marbled appearance (Fig. 15). I smally the rings are less numerous and are



Fig. 13.

Top of a lilac branch showing leaf rolling and blighting-advanced symptoms of mosaic.

scattered uniformly over the leaf blade. They are visible on both sides of the leaves. Excluding the oldest or lowest standing leaves most of the leaves of infected plants show the ring spot pattern. Where the ring spots

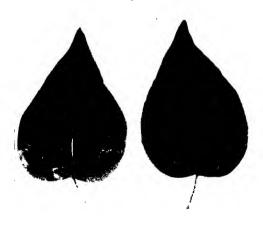


Fig. 14.
Lilac leaves showing symptoms of ring-spot.

are more numerous along the margins of the leaves, these become chlorotic and finally die. No rolling and general blighting of the leaves has been seen on the lilacs infected with the ring spot until the natural defoliation of the plants late in November. This is another important difference between the mosaic and ring spot diseases of lilacs. On one of the infected lilacs the ring spots were larger and the lighter green tissues of the ring spots soon became necrotic and took on at first a brown, and

D. Atanasoff: 218

later on, a white color (Fig. 16). Even more interesting symptoms were shown by another lilac plant. Here, besides the few ring spots of normal size and color that were seen scattered over the leaf blades, there were present

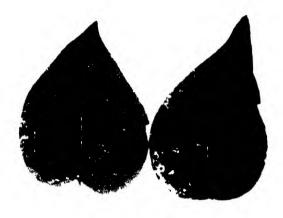


Fig. 15. Lilac leaves showing numerous small ring-spots

also broad bands of lighter green to vellowish green tissues running across the leaf blades, producing a pronounced contraction of the leaf at that line (Fig. 17). The lower part of the leaf below the band has a paler green to yellowish color and a more pronounced venation. The upper part of the leaf standing above the band has a normal green color. The band of lighter tissues, the contraction of the leaf at this place, the sickly appearance of the lower part of the leaf. and the normal condition of the

upper part of the leaf described and pictured here is an evidence of immunological reactions on the side of the normal tissues which merit further study. The lighter colored band shown in Fig. 17 is evidently a battle line where the protective forces of the healthy tissues are meeting

and resisting the advancement of the destructive forces produced by the ring spot virus.

The few ring spots seen in the normal part of the leaves shown in Fig. 17 apparently are not a result due to a general invasion of the leaf tissues by the virus, but probably represent vanguards which succeeded in passing the trenches of the opposing forces using some of the conductive tissues of the leaf. This is suggested by the fact that nearly all of the ring-spots in this case are formed at the end of a large vein.

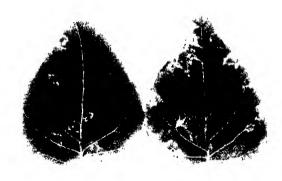


Fig. 16. Lilac leaves showing large ring-spots.

4. Ligastrum rulgare. - Privet variegation. - Baur (8, 9) in 1906 and 1907, studying the infectious variegation of some trees and shrubs, showed that the variegation of Ligustrum rulgare fol. aureovariegatis goes over to green Ligustrum but only by means of grafting. It is not seedborn.

Kränzlin (40, 41) in 1908 and Hertzsch (35) in 1927 confirmed Baur's results regarding the infectious nature of the Ligustrum variegation.

5. Jasminum officinale. — Jasmine variegation. — The infectious nature of Jasmine variegation has been known ever since the latter part of the seventeenth century. A number of men have claimed the priority of the discovery. Rev. John Lawrence (42) in his famous "Clergy-Man's Recreation, Showing the Pleasure and Profit of the Art of Gardening" of which at least six editions were published, claimed that he has made "this noble Discovery". Blair (12) writing in 1719 stated that the first case of a graft-transmissible variegation "was first observed by Mrs. Wats



Fig. 17.
Lilac leaves partially affected by ring-spot.

at Kensington, about 18 years ago; Mr. Bradly says he observed it several years since; though Mr. Lawrence would insinuate that he had first discovered it. Cane (20) on the other hand, writing on the same subject in 1720 states that he performed the first grafting of a variegated Jasmine scion on a green Jasmine in the month of April 1692. The grafting succeeded but "in a month or five weeks it was blighted". The following year it sent new shoots, some of which were coming directly from the root, all of them having yellow striped leaves. Godsall (32) in 1869 is the last one who transmitted successfully the variegation of Jasminum officinale to Jasminum recolutum and from Jasminum revolutum to the green Jasminum officinale. Darwin, E. (25), Moretti (48), Darwin, C. (24) and many others in more recent years have discussed and cited the above cases of Jasmine variegation.

After a long search the author found a Jasmine standing in the Sofia Forest Nursery which shows a very typical mosaic pattern of leaf

220 D. Atanasoff:

mottling, yet the author believes that the variegation which so early attracted the attention of gardeners is different and must have had very striking symptoms, perhaps such as those of Abutilon variegation; otherwise it would not have attracted any attention.

#### XVIII. Apocynaceae.

Nerium oleander. Oleander variegation. Morretti (48) in 1831 reported that grafting variegated Oleander on green Oleander he observed the variegation passing over from the variegated scion to the green stock. Gärtner (31) in 1849 states also that the oleander variegation is transmissible like that of Jasmine. The author has not been able so far to see any variegated oleander or to get any other information on this subject, which needs further study.

#### XIX. Caprifoliaceae.

Sambucus nigra. Elder mosaic. Blattný (13) in 1930 described a typical vein mosaic on elder which he has observed at various places in Czechoslovakia and Germany. The leaves of infected plants show dark yellowish green venation. The infected plants are dwarf, with few and mostly sterile flowers. The disease is spread by Aphis sambuci.

#### Literature cited

- 1 Anonymous. Gard. Chronicle 1873: 850, 1873.
- 2 Anonymous. Gard. ('hronicle N. S. 3: 81, 1875.
- 3 Anonymous. Gard. Chronicle 16: 507, 1881.
- 4 Atanasoff, D. Is bitter pit of apples a virus disease? Phytopath. Zeitschrift 7: 145-168, 1934.
- 5 Atanasoff, D. Virus diseases of plants: A Bibliography. 219 pp. Sofia, 1934.
- 6 Atanasoff, D. Bitter pit of pome fruits is a virus disease. Yearbook Univ. of Sofia, Faculty of Agric. 13: 1—8, illus. 1934/35.
- 7 Atanasoff, D. Mosaic of stone fruits. Phytopath. Zeitschrift 8. 1935.
- 8 Baur, E. Weitere Mitteilungen über die infektiöse Chlorose der Malvaceen und über einige analoge Erscheinungen bei Ligustrum und Laburnum. Ber. d. D. Bot. Ges. 24: 416—428, 1906.
- 9 Baur, E. Über infektiöse Chlorosen bei Ligustrum, Laburnum, Fraxinus, Sorbus und Ptelea. Ber. d. D. Bot. Ges. 25 (7): 410—413, 1907.
- 10 Baur, E. Über eine infektiöse Chlorose von Evonymus japonicus. Ber. d. D. Bot. Ges. 26 (8): 711-713, 1908.
- 11 Bitancourt, A. and Grillo, H. V. S. A clorose zonada. Una nova doença dos Citrus. Arq. Inst. Biol. Defesa Agric. e Animal 5, 6 pp., 6 pl., 1934.
- 12 Blair, P. Botanic Essays. pp. 383-386. London, 1719.
- 13 Blattný, C. Poznámkí o virových a přibuzných chorolách rostlin I. Ochrana Rostlin 10 (4-5); 130-138, 1930.
- 14 Bouché, C. Sitzungsber. Ges. Naturforsch. Freunde. Berlin, 1870.
- 15 Bouché, C. Sitzungsber. Ges. Naturforsch. Freunde. Berlin. 17. Juli 1871. Bot. Zeitung 30: 28-30, 1872.
- 16 Bradford, F. C. and Joley, L. Infectious variegation in the apple. Journ. Agric. Res. 46 (10): 901-908, illus., 1933.
- 17 Bradley, R. New Improvements of Planting and Gardening 2: 129, 1717.
- 18 Bradley, R. Treatise on Husbandry. 1: 199, 1724.
- 19 Bradley, R. A generale Treatise on Husbandry and Gardening. 1: 282, 283; 2: 129, London, 1726.
- 20 Cane, H. An account of two observations in gardening, upon the changes of color in grapes and Jessamine. Royal Society Phil. Trans. Ser. B. 31: 102, 1720.
- 21 Carrière, E. A. Influence du greffon sur le sujet. Revue Horticole 59: 58-59.
- 22 Chester, K. S. Graft-blight: A disease of lilac related to the employment of certain understocks in propagation. Journ. Arnold Arboretum 12 (2): 79-146, 4 pl., 1931.
- 23 Condit, Ira J. and Horne, W. T. A mosaic of the fig in California. Phytopath. 23: 887-896, 4 figs., 1933
- 24 Darwin, Ch. The variation of Animals and Plants under Domestication 1: 418. New York, 1897.
- 25 Darwin, E. Phytologia: or the Philosophy of Agriculture and Gardening. pp. 60, 386 and 539, London 1800.
- 26 Doidge, E. M. Citrus diseases. In Davis, R. A.: Citrus growing in South Africa. Diseases, pp. 193—240, Cape Town, 1924.
- 27 Doidge, E. M. Some diseases of Citrus prevalent in South Africa. South African Journ. of Sci. 26: 320-325. 1929.
- 28 Fawcett, H. S. New symptoms of psorosis, indicating a virus disease of citrus. Phytopath. 23 (11): 930, 1933.

- 29 Fawcett, H. S. Is psorosis of citrus a virus disease? Phytopath. 24 (6): 659—668, 3 figs., 1934.
- 30 Freiberg, G. W. Studies on the mosaic disease of plants. Ann. Mo. Bot. Gard. 4 (2): 175-232, 1917.
- 31 Gärtner, C. F. v. Versuche und Beobachtungen über die Bastarderzeugung im Pflanzenreich. S. 611, Stuttgart, 1849.
- 32 Godsall, W. Gard. Chronicle. p. 838, 1869.
- 33 Hartley, ('. and Haasis, F. W. Brooming disease of black locust. (Robinia pseudoacacia.) Phytopath. 19 (2): 162-166, 2 figs., 1929.
- 34 Hartley, C. and Jackson, L. W. R. A brooming disease of *Robinia pseudo-acacia* transmitted by grafts. Phytopath. 23: 13, 1933.
- 35 Hertzsch, W. Beiträge zur infektiösen Chlorose. Zeitschr. f Bot. 20: 65-86; 20 Abb., 1927.
- 36 Hertzsch, W. Infektiöse Chlorose. Der Züchter, 2: 195-199, 8 Abb., 1930.
- 37 House, H. Transfer of variegation from scion to stock. Gard. Chronicle 1873: 849, 1873.
- 38 lschitkawa, N. On the similarity of mulberry dwarfs and peach yellows in regard to their symptoms and cause. Bot. Mag. Tokyo 9: 82-89. 1896.
- 39 Jackson, L. W. and Hartley, C. Transmissibility of the brooming disease of black locust. Phytopath. 22: 83-90, 2 figs., 1933.
- 40 Kränzlin, G. Anatomische und farbstoffanalytische Untersuchungen an panaschierten Pflanzen. Inaug.-Diss. Berlin. S. 62, 75 Tafeln, 12 Figs. 1908.
- 41 Kränzlin, G. Untersuchungen an panaschierten Pflanzen. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten 18: 193-203, 1 Abb., 1908.
- 42 Lawrence, J. The Clergy-Man's Recreation. p. 95, London 1715.
- 43 Lindemuth, H. Vorläufige Mitteilungen von Veredlungsversuchen innerhalb der Malvaceen und Solanaceen. Gartenflora 46: 1-6, 1897.
- 44 Masters. Action of scion on stock. Gard. Chronicle, N.S. 7: 730, 1877.
- 45 McAlpine, D. Bitter Pit Investigations. First Progress Report, p. 76. Melbourne 1911-12.
- 46 Miller, Ph. Allgemeines Gärtner-Lexicon, 4: 553-554, 1776.
- 47 Miyoshi, M. Untersuchungen über die Schrumpfkrankheit (Iskikubyo) des Maulbeerbaumes. II. Bericht. Journ. College of Sci. Tokyo., v. 15, 1901.
- 48 Moretti, J. In Hyacinthi Guicciardi diss. inaugur. de nonnullis physiologicobotanicis animadversionibus quae retrogradum lymphae vegetabilis motum respiciunt. Ticini Regi, 1831: 15.
- 49 Morren, E. L'hérédité de la panachure. Bull. Acad. Roy. des Sci. de Belg. Sér. 19: 224—234, 1865.
- 50 Morren, E. Contagion de la panachure (Variegation). Bull. Acad. Roy. des Sci. de Belg. 2. Sér. 28: 434-442, 1 col. pl., 1869.
- 51 Noble, R. J. Woodiness of Passion fruit. Cause of the disease discovered. Agr. Gas. N. S. Wales 39 (9): 681-683, 2 figs., 1928.
- 52 Noble, R. J. Some observations on the woodiness or bullet disease of Passion fruit. Journ. Proc. Roy. Soc. N. S. Wales 62: 79-98, 4 pl., 1928.
- 53 Noisette, L. Manual complet du gardinier. 2: 20, Paris 1835.
- 54 Pape, H. Mosaikkrankheit bei Rhododendron. Gartenwelt 35 (45): 621, 1931.
- 55 Petri, L., Variegatura infettiva delle foglie di "Citrus vulgaris". Risso Boll. R. Staz. Pat. Veg. 11 (2): 105-114, 3 figs., 1931.
- 56 Petri, L. Sur une méthode pour effectuer les injections de virus dans les feuilles.
  2. Congr. Intern. de l'ath. Comp. Paris. II. Compt. Rend. et Commun. pp. 439—441, 1931.

- 57 Rankin, W. H. Mottle leaf disease of beach. Phytopath. 18: 151, 1928.
- 58 Rankin, W. H. A new disease of elm. Seventh Nat. Shade Tree Conf. Proc. Ann. Meeting, August 27, 28, 29, 1931; pp. 79-82, 1931.
- 59 Reuter. Die Resultate verschiedener Veredlungsarten. Botaniker-Zeitung 28: 641-645, 1870.
- 60 Rischkow, V. Neue Daten über geaderte Panaschierung bei Evonymus japonicus und Evonymus radicans. Biol. Zentralblatt 46 (12): 752-764, 3 Figs., 1927.
- 61 Rischkow, V. L. Infectious chlorosis in Evonymus japonicus and Evonymus radicans. Journ. All. Russ. Congr. Bot. Leningrad 1928: 184-185, 1928.
- 62 Sastrii, N. B. and Narayana, N. The spike disease of Dodonaea viscosa. Journ. Indian Inst. Sci. 13 A (12: 147-152, 1931.
- 63 Shibata, K. Die Enzymbildung in schrumpfkranken Maulbeerbäumen. (Vorläufige Mitteilung.) Bot. Magaz. 17: 157, 1903.
- 64 Suzuki, U. Report of investigations on the mulberry-dwarf troubles, a disease widely spread in Japan. Bull. College Agr. Imperial Univ. Tokyo 4 (3), 1900.
- 65 Suzuki, U. Investigation on the mulberry-dwarf troubles, a disease widely spread in Japan. Bull. College Agr. Imperial Univ. Tokyo 4 (4): 267-388, 1900.
- 66 Suzuki, U. Chemische und physiologische Studien über die Schrumpfkrankheit des Maulbeerbaumes, eine in Japan sehr weit verbreitete Krankheit. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten 12: 203—226, 258—278, 1902.
- 67 Swailes, G. Influence of scion on the stock. Gard. Chronicle 3 Ser. 2: 284, 368, 1 fig., 1887.
- 68 Swingle, W. T. The crops for Arizona and the improvement of old ones. Assos. Arizona Producer 7 (6): 3, 5, 10-11, 13, 1928.
- 69 Syme, G. The influence of the bud on the stock. Gard. Chronicle N. S. 8: 246, 1877.
- 70 Timpe, K. Panaschierung und Transplantation. Jahrb. Wiss. Anst Hamburg 24 (3): 55-104, 1907.
- 71 Trabut. Sur la chlorose infectieuse des citrus. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris 156: 243-244, 1913.
- 72 Van der Bijl, P. A. Agriculture in the winter rainfall area. The work of an important institution. Farming in South Africa 6 (68): 354-358, 1931.
- 73 Waters, C. E. Witches' broom on the locust. Plant World 1: 83-84, 1898.
- 74 Zaprometoff, N. G. Bacteriosis and dwarfiness new diseases of the Mulberry in Central Asia. Sericulture (Moscow) 1932 (5): 36-38, 1932.
- 75 Zeller, S. A. A witches. broom (prob. virus) of ocean spray (Holodiscus discolor-Max.) Phytopath. 20 (10): 851, 1930.
- 76 Zeller, S. A. A witches' broom of ocean spray (Holodiscus discolor). Phytopath. 21 (9): 923-925, 1 fig., 1931.

#### Richtigstellung.

In unseren: "Untersuchungen zur Frage der Uredoüberwinterung der Getreideroste in Deutschland" (diese Zeitschrift, Bd. 7, Heft 4) ist auf Seite 359 ein Versehen unterlaufen. In der vierten Zeile von unten muß es nicht heißen: "als Beweis überwinternden Mycels", sondern: "als Beweis überwinternden bzw. während des Frühjahrs im Freien eingedrungenen Mycels".

P. Gaßner und E. Pieschel.

### Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Bonn-Poppelsdorf.

# Studien über die Bedeutung der Lipoide, insbesondere der Phosphatide, für die Frostresistenz der Pflanzen.

Von

#### A. F. Wilhelm.

#### Einleitung.

Im Verlaufe unserer früheren Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung auf die Kälteresistenz landwirtschaftlich wichtiger Kulturpflanzen stellte sich heraus, daß die bisher für die Frostresistenz winterfester Pflanzen als wesentlich betrachteten Faktoren zu einer Erklärung der gefundenen Resistenzunterschiede nicht ausreichten (Schaffnit u. Wilhelm, 6). Nach dem Ergebnis jüngster Versuche kann die die Frostresistenz erhöhende Wirkung der Kalidüngung erstens auf die Erhöhung der Zellsaftkonzentration und zweitens, und zwar wahrscheinlich hauptsächlich, auf einen spezifischen Einfluß des Kaliums auf das Verhalten der Plasmakolloide gegenüber Entquellungsvorgängen zurückgeführt werden (Wilhelm, 8). Demgegenüber ließen sich die bei verschiedener N- und P-Ernährung gefundenen Unterschiede weder mit dem Salz-. Zucker- oder Eiweißgehalt noch mit dem osmotischen Wert oder der Wasserstoffionenkonzentration dieser Pflanzen erklären. Es lag daher der Gedanke nahe, solche für das Protoplasma wichtige Bestandteile in die Untersuchungen mit einzubeziehen, deren Bildung einerseits auf Grund ihrer chemischen Zusammensetzung eine Abhängigkeit von der P- und N-Ernährung erwarten ließ, und die andererseits auf Grund kolloidchemischer Beziehungen bei Entquellungsvorgängen zu irreversiblen Veränderungen der Plasmastruktur führen würden. Als Stoffe mit den genannten Eigenschaften kommen in erster Linie die Phosphatide in Betracht.

Zunächst war natürlich die Frage zu prüfen, ob sich ein Einfluß der Lipoide auf die Frostresistenz überhaupt nachweisen läßt. Bisher liegen Untersuchungen über die Beteiligung der Lipoide an dem Frosttod nicht vor. Auf diese Lücke in der Kälteforschung hat vor kurzem auch H. Wartenberg (7) hingewiesen. Das muß eigentlich verwunderlich erscheinen, da Lipoide "einen konstitutiven Bestandteil des Protoplasmas" darstellen (Czapek, 2) und an der Ausbildung der spezifischen Struktur des Protoplasmas maßgeblich beteiligt sind. Boas (1) spricht z. B. von komplexdispersen Zuständen im Protoplasma, die namentlich durch die Anwesenheit von Lipoiden, wie Lecithin, Sterinen und ihren wechselnden und komplizierten Bindungen mit und an Eiweiß zu komplexen Kolloiden bedingt sind. Ein maßgeblicher Einfluß der Lipoide auf den Frosttod als die Folge starker Eisbildung bzw. starken Wasserentzuges war um so mehr anzunehmen, als die Lipoide im allgemeinen mehr hydrophobe als hydrophile Eigenschaften zeigen (Höber, 3) und infolgedessen bei Entquellungsvorgängen eher irreversible Veränderungen erleiden müssen als die ausgeprägt hydrophilen Eiweißstoffe.

A. F. Wilhelm:

Von diesen Erwägungen ausgehend wurde daher erstens die Wirkung sogenannter Lipoidveränderer auf die Frostresistenz untersucht. Zweitens wurde geprüft, ob die Phosphatidgehalte von mit verschiedenen N- und P-Gaben ernährten Gerstenpflanzen eine Beziehung zur Frostresistenz dieser Pflanzen erkennen lassen. Schließlich wurden noch Versuche über das Verhalten der in Preßsäften vorhandenen Phosphatide beim Gefrieren angestellt.

#### B. Versuche.

1. Versuche über die Wirkung sogenannter Lipoidveränderer auf die Frostresistenz von Rotkohlzellen.

Durch eine spezifische Lipoidwirkung sind vor allem Äther, Chloroform, Urethane, Saponine und gallensaure Salze ausgezeichnet mit der Einschränkung, daß allerdings letztere gleichzeitig Eiweißwirkung äußern. Bekanntlich wirken Äther und Chloroform als Lösungsmittel für Lipoide: Urethane werden in diesen Stoffen vorzugsweise gelöst und verändern dadurch deren Oberflächenspannung; Saponine und gallensaure Salze gehen mit Lecithin und Cholesterin chemische Verbindungen ein (Lit. bei Boas, 1). In allen Fällen resultiert aus ihrer Einwirkung auf die Protoplasmalipoide eine Veränderung der normalen Adsorptionsverhältnisse und somit des natürlichen Kolloidsystems der Zellen, die - wenn sie schädlich und groß genug ist - zum Absterben des Plasmas führen muß. Es war daher zu erwarten, daß diese Stoffe auch in Konzentrationen angewendet, die unter normalen Bedingungen von der Zelle ohne Schaden vertragen werden, bei besonderen Beanspruchungen physikalischer Art, im vorliegenden Falle beim Gefrieren, eine Wirkung äußern würden. Außer den genannten, durch ihre spezifische Lipoidwirkung bekannten Stoffen wurde Seife, K - oleinat, in die Versuche einbezogen unter der Voraussetzung, daß Seife als stark oberflächenaktive Substanz und bekannt guter Emulgator die natürlichen Adsorptionsverhältnisse des Plasmasystems, das mit einer Emulsion gewisse Gemeinsamkeiten zeigt, entweder in stabilisierendem oder labilisierendem Sinne verändern würde. Einen Hinweis darauf, daß Lipoidveränderer die Kälteresistenz beeinflussen können, hat schon unbewußt Maximow (4) gegeben, indem ihm bei seinen Untersuchungen über chemische Schutzmittel gegen das Erfrieren der Pflanzen in Urethan zum erstenmal ein Stoff begegnete, der in vitalen Konzentrationen die Erfriertemperatur seiner Objekte erhöht hat. Maximow hat diesem Befund aber keine weitere Beachtung geschenkt, da er, von ganz anderen Gesichtspunkten ausgehend, seine Stoffe ausgewählt hatte.

Zu den nachfolgend beschriebenen Versuchen wurden gleichwertige Oberflächenschnitte von Rotkohlblättern verwendet. Die Blätter waren von Pflanzen genommen, die während des Winters auf freiem Feld geblieben und so sehr gut abgehärtet waren. Die Ausgangssubstanzen "Natrium choleinicum des Handels" und Saponin rein, weiß, waren von der Firma Merck bezogen. Die Seife habe ich aus reiner Ölsäure und alkoholischer Kalilauge hergestellt, wobei Ölsäure im Überschuß genommen wurde, so daß sie nach Abdampfen des Alkohols als Schichte überstand. Die genaue Konzentration der zu den Versuchen benutzten Seifenlösungen kann leider nicht angegeben werden, da durch Überkochen bei der Verseifung ein unbekannter Verlust entstand. Gegen Lackmus reagierten die Seifenlösungen neutral. Aus Vorversuchen ergab sich, daß Rotkohlschnitte sowohl bei Zimmertemperatur als bei +2° bis +3° einen dreitägigen Aufenthalt ohne erkennbaren Schaden in folgenden Konzentrationen vertrugen: Natrium choleinicum 0.25%, Saponin 2%, Seife 2(?)%, Äther 0,4%, Chloroform 0,3% und Phenylurethan 0,5%. Längere Einwirkungszeiten sind nicht untersucht worden, da sie in den Versuchen selbst viel kürzer gewählt wurden. Zu jedem Einzelversuch wurden mindestens zehn Schnitte verwendet und gleichzeitig dieselbe Zahl zur Kontrolle in den entsprechenden Lösungen bei  $+2^{\circ}$  belassen. Wenn daher in einzelnen, unten angeführten Versuchen höhere Konzentrationen als die oben genannten zur Anwendung kamen, dann sind die Ergebnisse natürlich nur gewertet worden, wenn die Kontrollen unbeschädigt geblieben waren.

Das Gefrieren der mit den verschiedenen Mitteln behandelten Schnitte wurde in dem Tiefkühlschrank unserer Kälteanlage vorgenommen, wo ein Ventilator für den Temperaturausgleich innerhalb des Raumes sorgte. Eine gleichmäßige Abkühlung der Objekte ließ sich dadurch erreichen, daß sie mit den entsprechenden Lösungen in gewöhnliche Deckglasringe übertragen wurden, die auf eine Glasplatte aufgeklebt waren. In Tabelle 1 ist das Ergebnis von vier Versuchen zusammengestellt, wozu noch folgendes zu bemerken ist:

Zu Versuch 1 wurden die Schnitte, die vorher ein bis zwei Stunden in Leitungswasser aufbewahrt worden waren, um 13 Uhr in je 20 ccm der entsprechenden Lösungen gebracht, wo sie bis 17 Uhr, d. i. während vier Stunden, bei  $+3^\circ$  verblieben. Dann übertrug man sie möglichst

Tabelle 1.								
Einfluß von	Lipoidveränderern	auf da	s Erfrieren	von	Rotkohlschnitten.			

Lösungsmittel	Versuch 1, Tem- peratur — 7° C	Temp	nch 2, peratur 6 ° C	Versu Temp — 5	Versuch 4, Tem- peratur — 5° C	
und Konzentration	in den Lösungen gefroren	in den Lösungen gefroren	in Wasser gefroren	in den Lösungen gefroren	in Wasser gefroren	in den Lösungen gefroren
1. Wasser	1/2 tot	leben	leben	leben	leben	leben
2. Ather $0.25^{\circ}/_{0}$ Ather $0.1^{\circ}/_{0}$	tot tot	tot tot	tot	tot ¹/3 tot	1/2 tot leben	1/2 tot leben
3. Chloroform 0,2°/0	tot	tot	1/8 tot	tot	leben	1/8 tot
4. Phenylurethan $0,4^{\circ}/_{\circ}$ . Phenylurethan $0,2^{\circ}/_{\circ}$ .	tot tot	tot 1/2 tot	2's tot leben	1/2 tot leben	1/3 tot leben	leben leben
5. Saponin 3.%	tot tot	tot ¹/2 tot	1/2 tot leben	tot 1/8 tot	1/8 tot leben	1/2 tot leben
6. Seife $x^{0}/_{0}$ Seife $^{1}/_{2} x^{0}/_{0}$	tot tot	tot ²/a tot	tot leben	1/2 tot leben	leben leben	leben leben
7. Na-choleinicum $0.25^{\circ}/_{o}$ Na-choleinicum $0.125^{\circ}/_{o}$	tot tot	tot leben	1/s tot leben	1/8 tot leben	leben leben	leben leben

rasch mit etwa zehn Tropfen Lösungsmittel in die Deckglasringe und ließ sie bei  $-7^{\circ}$  vom 26. Januar, 17,30 Uhr, bis 27. Januar, 11 Uhr, gefrieren. Nach langsamem Auftauen bei  $+3^{\circ}$  wurden die Schnitte in Wasser übertragen und am Abend der Schädigungsgrad unter dem Mikroskop festgestellt. Die nicht gefrorenen, in den Lösungen verbliebenen Schnitte ließen auch am nächsten Tage keine Schädigung erkennen.

Bei Versuch 2 verfuhr man in der gleichen Weise, wie oben angegeben ist, mit der Erweiterung, daß jeweils die Hälfte der Schnitte nach vierstündiger Einwirkung der Reagenzien während 30 Minuten in Leitungswasser gewaschen und in Wasser zum Gefrieren gebracht wurden. Die Kühlung dauerte bei einer Temperatur von —6° zwölf Stunden.

In den Versuchen 3 und 4 wurde die Temperatur höher,  $-5^{1/2^{0}}$  und  $-5^{0}$  gewählt. Das Gefrieren dauerte ebenfalls 12 bzw. 14 Stunden.

Zur Feststellung des Schädigungsgrades wurde stets nur zwischen objektiv lebenden und abgestorbenen Zellen unterschieden, deren relatives Verhältnis sich leicht abschätzen ließ.

Ergebnis. Der Ausfall der Versuche beweist eindeutig, daß alle verwendeten Lipoidveränderer die Frostresistenz der Rotkohlzellen vermindert haben. Aus Versuch 2 und 3 ist ersichtlich, daß höhere Konzentrationen eine stärkere Wirkung äußerten als geringere und ferner, daß durch ein kurzes Auswaschen die Wirkung dieser Stoffe nach Anwendung in niedrigen Konzentrationen aufgehoben und nach Anwendung in stärkeren Konzentrationen abgeschwächt wurde. Aus einem Vergleich von Versuch 1 und 4 ergibt sich, daß vitale Konzentrationen von Äther, Chloroform und Saponin die Erfriertemperatur von Rotkohlschnitten um etwa 2° nach oben verschieben konnten.

Auf Grund der Tatsache, daß Äther, Chloroform und Urethane in der Physiologie als Narkotika weitgehend Anwendung finden, könnte die Vermutung geäußert werden, daß durch die Einwirkung dieser Stoffe auf die Lipoide in erster Linie der reguläre Zellstoffwechsel etwa auf dem Wege einer Blockierung lebenswichtiger Fermentprozesse bei den gesetzten niedrigen Temperaturen geschädigt und auf diese Weise der Tod verursacht würde. Um das Zutreffen dieser Annahme zu prüfen, wurden Rotkohlschnitte zuerst auf drei Stunden in die Lösungen der oben verwendeten Lipoidreagenzien gebracht und dann auf eine Stunde in molare Glukose- bzw. Calciumacetatlösungen übertragen, die gleichzeitig Äther, Chloroform, Saponin usw. in den angegebenen Konzentrationen enthielten. Nach dieser Vorbehandlung ließ man die Schnitte nach der früher geübten Weise gefrieren. Während bekanntlich reine Glukose- und Calciumacetatlösungen in den verwendeten Konzentrationen die Erfriertemperatur des Rotkohls um mehrere Grad erniedrigen, hätten sie in Gegenwart der Lipoidveränderer wirkungslos bleiben müssen, falls die obige Annahme richtig wäre.

Die Versuche wurden im Mai mit Rotkohl ausgeführt, der in einem ungeheizten Gewächshaus gezogen worden war. Der osmotische Wert des Zellsaftes entsprach etwa 0,7 molarer Zuckerlösung, da 0,65 molare Glukoselösung keine Plasmolyse hervorrief und in 0,75 molarer alle Zellen deutlich plasmolysiert wurden. Die früher erhaltenen Befunde bei Verwendung der reinen Lösungen von Äther, Saponin usw. konnten auch an diesem Material voll bestätigt werden, nur mußte die Kühltemperatur etwas höher gewählt werden, da schon bei — 6° in Wasser fast alle Zellen erfroren. Das Ergebnis der Versuche mit plasmolysierenden Lösungen ist für die Temperaturen von — 8° und — 12° in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Es geht daraus hervor, daß die Wirkung der Lipoidveränderer bei niedrigen Temperaturen nicht auf tödlich verlaufende Stoffwechselstörungen zurückzuführen ist; denn noch bei —8° blieben trotz ihrer Gegenwart fast alle Zellen am Leben. Auf der anderen Seite zeigen die bei —12° durchgeführten Versuche, daß die resistenzvermindernde Wirkung der Lipoidveränderer auch bei Gegenwart von Glukose und Calciumacetat zutage tritt. Die Kombination Natrium choleinicum und Calcium-

Tabelle 2.

Der Einfigs von Lipeidverunderern
auf das Erfrieren von Rotkohlschnitten bei gleichzeitiger Plasmolyse.

Lösungen	Temperatur 8 ° C	Temperatur — 12 ° C
1. Wasser 2. Glukose 1 mol 3. Ca-Acetat 1 mol 4. Glukose + Äther 0,25 % Glukose + Äther 0,1 % 5. Glukose + Chloroform 0,8 % 6. Glukose + Saponin 3 % 7. Glukose + Na-Choleinicum 0,25 % Glukose + Na-Choleinicum 0,125 % Glukose + Seife zirka 2 % 9. Ca-Acetat + Äther 0,25 % Ca-Acetat + Äther 0,1 %	tot leben leben 1/, tot leben leben leben leben leben leben leben leben	tot leben leben tot tot tot tot tot tot tot tot tot to
10. Ca-Acetat + Chloroform 0.3 %	leben	tot
11. Ca-Acetat $+$ Saponin 3%	leben	1/2 tot
12. Ca-Acetat + Seife zirka 2º/a	leben	leben

acetat war unbrauchbar, da sie infolge alkalischer Reaktion giftig wirkte; bei Calciumacetat plus Seife kam die Seifenwirkung nicht zur Geltung, da unlösliche Calciumseifen gebildet wurden. Bemerkenswert erscheint übrigens, daß in diesen und den früheren Versuchen die 0,25 prozentige Ätherlösung wirksamer war als die 0,3 prozentige Chloroformlösung, während im allgemeinen Chloroform in schwächeren Konzentrationen narkotisierend und giftiger wirkt als Äther.

Als wesentliches Resultat dieser Versuche ist die Tatsache herauszustellen, daß durch Einwirkung mittels spezifischer Reagenzien auf die Zell-Lipoide die Erfriertemperatur von Rotkohlschnitten nach oben verschoben wird. Wir sind berechtigt anzunehmen, daß diese Resistenzverminderung die Folge einer irreversiblen Veränderung der spezifischen Plasmastruktur ist, da an deren Bau die Lipoide maßgeblich beteiligt sind. In der Hauptsache dürfte mit Adsorptionsveränderungen zu rechnen sein, die zu einer Entmischung der natürlichen Kolloidkomplexe führen.

2. Der Phosphatidgehalt junger, bei verschiedener N- und P-Ernährung gewachsener Gerstenpflanzen und seine Beziehung zur Frostresistenz dieser Pflanzen.

In der Einleitung ist schon der Grund angegeben, warum eine Untersuchung der Phosphatide im Zusammenhang mit der Frostresistenz der mit verschiedenen N- und P-Gaben ernährten Pflanzen notwendig wurde. Obwohl bis jetzt nicht bekannt ist, welche besondere Funktion die Phosphatide im Protoplasma zu erfüllen haben, spricht schon ihre allgemeine Verbreitung für ihre Unentbehrlichkeit. Auf Grund ihrer hohen

Adsorptionsfähigkeit und Oberflächenaktivität wird angenommen, daß sie, einem Emulgator in Emulsionen vergleichbar, dem Plasmasystem eine gewisse Stabilität verleihen. Bekannt ist auch die Fähigkeit des Lecithins, Proteine vor der Ausfällung durch Alkohol zu schützen. Demnach kann Phosphatiden auch die Rolle von Schutzkolloiden zukommen. Eine Verringerung der Phosphatidmenge müßte daher unter beiden Gesichtspunkten eine Änderung der Stabilität des Protoplasmas zur Folge haben.

Als Versuchspflanze diente Friedrichswerther Berg-Wintergerste. Die Anzucht- und Ernährungsbedingungen waren die gleichen wie die der seinerzeit (vgl. Wilhelm, diese Zeitschrift, Bd. VIII, Heft 2, S. 120) zur Bestimmung der Frostresistenz verwendeten Pflanzen. Die in Vegetationsgefäßen gezogenen Pflanzen waren vom 18. Januar ab bei 2°±1° abgehärtet worden. Die Pflanzen der N-Reihe kamen am 1. und 2. Februar zur Analyse, die der P-Reihe erst zwei Wochen später, am 13. Februar.

Zur Darstellung und quantitativen Bestimmung der Phosphatide wurde folgendermaßen (Winterstein, 9) vorgegangen. Die oberirdischen Teile der frisch geernteten Pflanzen wurden unter Zusatz von chemisch reinem Quarzsand fein zerrieben und bei 70° mehrmals mit 96 prozentigem Alkohol, der mit Phenol vergällt war, extrahiert. Die alkoholischen Auszüge wurden im Vakuum bei 50° abgedämpft, der Rückstand abwechselnd mit Wasser und Äther gelöst und in einen Schütteltrichter übergeführt. Der Äther mußte nun mehrmals mit destilliertem Wasser ausgewaschen werden. Beim Schütteln sich bildende kolloidale Lösungen ließen sich durch Kochsalzzusatz klären. Die völlig klare Ätherlösung wurde dann mit getrocknetem Natriumsulfat entwässert und filtriert. Nach Verdampfen des Äthers wurde der verbleibende Rückstand unter Zusatz von Soda und Pottasche verbrannt und der Phosphor nach dem Molybdänverfahren bestimmt.

Das Ergebnis der Bestimmungen ist in Tabelle 3 zusammengestellt. Da der Wassergehalt innerhalb der Ernährungsreihen nicht stark verschieden war, konnte das Frischgewicht als Bezugsgröße gut verwendet werden. Der Phosphatidphosphor ist als gewogene Menge Magnesiumpyrophosphat angegeben.

Ergebnis. Erwartungsgemäß wurde der Phosphatidgehalt bei geringen Phosphor- und Stickstoffgaben am niedrigsten gefunden; am vorteilhaftesten erwies sich für die Ausbildung dieses Plasmastoffes eine Ernährung mit mittleren Phosphor- und Stickstoffgaben. Der bei den geringen N- bzw. P-Gaben gefundene niedrige Phosphatidgehalt erscheint natürlich dadurch erklärlich, daß im Phosphatidmolekül N und P enthalten ist, von denen jedes Element als Minimumfaktor dessen Bildung begrenzen kann. Die Depression des Phosphatidgehaltes bei reichlicher

Tabelle 3.
Einfluß verschiedener N- und P-Gaben
auf den Phosphatidgehalt junger Gerstenpflanzen.

#### 1. N-Reihe.

	N <sub>1</sub>	N,	N <sub>8</sub>	N <sub>4</sub>
Trockengehalt	12,77 %	12,34 °/ <sub>6</sub>	12,32 %	12,98 %
	34,18 g	87,78 g	87,52 g	32,30 g
	8,9 mg	16,7 mg	20,8 mg	9,9 mg
	20,04 mg	44,20 mg	55,44 mg	30,65 mg

#### 2. P-Reihe.

	P <sub>1</sub>	P.	P <sub>s</sub>	P4
Trockengehalt	13,53 %	14,05 °/ <sub>0</sub>	14,59 °/ <sub>0</sub>	14,63 °/ <sub>6</sub>
	39,43 g	31,22 g	32,53 g	29,60 g
	20,2 mg	24,8 mg	7,6 mg	6,2 mg
	51,23 mg	79,44 mg	23,36 mg	20,95 mg

N-Ernährung kann man sich dadurch verursacht denken, daß die zur Verfügung stehenden Phosphate bei einem Überangebot von Stickstoff in bevorzugter Weise zur Bildung von Nukleinstoffen verwendet werden und daß so die Phosphatidbildung zurückgedrängt wird. Die Abnahme der Phosphatidmenge bei der höchsten Phosphorgabe ist vermutlich darauf zurückzuführen, daß bei dieser Nährstoffkonstellation ein relativer N-Mangel gegeben ist.

Bei einem Vergleich der Frostwiderstandsfähigkeit — bei 24 stündiger Einwirkung relativ tiefer Temperaturen — der mit N und P verschieden ernährten Pflanzen mit deren Phosphatidgehalt fällt auf, daß bei den Stickstoffernährungsreihen geringe Frostresistenz einem niedrigen Phosphatidgehalt entspricht und daß der höchste Resistenzgrad mit dem höchsten Phosphatidgehalt parallel geht. Von den bei abgestufter Phosphatdüngung gewachsenen Pflanzen sind die der  $P_4$ -Reihen, die den niedrigsten Phosphatidgehalt aufweisen, ebenfalls am wenigsten frostresistent; innerhalb der  $P_1$ -,  $P_2$ - und  $P_3$ -Pflanzen, deren Frostresistenz relativ geringe Unterschiede zeigt, fehlt eine engere Beziehung zwischen Phosphatidgehalt und Frostresistenz.

Die Tatsache, daß sowohl bei der N- als auch bei der P-Ernährungsreihe die frostempfindlichsten Pflanzen den geringsten Phosphatidgehalt aufweisen, gibt sicherlich die Berechtigung zu der Aussage, daß im vorliegenden Falle die Frostresistenz der Pflanzen von ihrem Gehalt an diesen Stoffen in maßgeblicher Weise bestimmt wird, und zwar um so mehr, als weder der Zucker- oder Eiweißgehalt noch der osmotische Wert

eine engere Beziehung zur Frostresistenz erkennen lassen. Die Wirkungsweise der Phosphatide bei starker Eisbildung läßt sich darin sehen, daß sie auf Grund ihrer kolloidchemischen Eigenschaften dem Protoplasma eine gewisse Stabilität verleihen, die mit einer Verringerung der Phosphatidmenge abnimmt.

3. Versuche über das Verhalten der Phosphatide beim Gefrieren von Preßsäften, die aus abgehärteten und nicht abgehärteten Weizenpflanzen gewonnen worden waren.

Auf die Bedenken einerseits gegen und die Berechtigung andererseits für eine Verwendung von Preßsäften zur Klärung biologischer Vorgänge wurde gelegentlich früherer Versuche (diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 145) schon hingewiesen. Den nachstehend mitgeteilten Versuchen lag folgende Fragestellung zugrunde:

- 1. Werden die in Preßsäften vorhandenen Phosphatide ebenso wie die Eiweißstoffe beim Gefrieren irreversibel verändert und ausgefällt?
- 2. Werden durch den natürlichen Abhärtungsvorgang die Phosphatide ebenso wie die Eiweißstoffe gegenüber starker Entquellung infolge Eisbildung stabiler?

Als Versuchspflanze diente Sammetweizen, der am 26. Februar in Kisten ausgesät worden war. Die Anzucht erfolgte bei normaler Düngergabe in der Vegetationshalle. Am 4. April wurde die eine Hälfte der Pflanzen in ein kühlbares Gewächshaus gebracht, wo eine Temperatur von  $+2^{\circ}+1^{\circ}$  herrschte. Die andere Hälfte kam nebenan bei einer Temperatur von 15° bis 20° zu stehen. Bei ihrer Ernte am 16. April waren die Pflanzen im Stadium des Bestockens. Der Preßsaft wurde aus den gesamten oberirdischen Pflanzenteilen gewonnen, die man zur Zerkleinerung durch eine Saftpresse trieb. Der so erhaltene Brei wurde unter einer Tellerpresse abgepreßt und der Saft durch Klär- und Entkeimungsschichten von Seitz blank filtriert. Die schwach gelb gefärbten Säfte wurden dann jeweils in zwei Teile geteilt. Die eine Hälfte wurde bei - 120 während 24 Stunden gefroren, die andere blieb für dieselbe Zeit bei 0° stehen. Durch das Gefrieren entstand ein + starker Niederschlag, von dem abfiltriert wurde. In je 10 ccm der klaren Säfte wurde nach der Tanninmethode der lösliche und der sogenannte Eiweiß-N bestimmt. 100 ccm wurden zur Ermittlung des Phosphatidphosphors verwendet, wobei in der früher beschriebenen Weise verfahren wurde. Das Ergebnis dieser Bestimmungen enthält Tabelle 4.

Ergebnis. Was den N-Gehalt der Preßsäfte betrifft, so geht aus dem hohen Anteil, den der lösliche N ausmacht, hervor, daß von dem sogenannten Eiweiß-N nur ein kleiner Teil in dem Preßsaft enthalten war, während der weitaus größere Teil im Rückstand verblieb. Der

Tabelle 4. Veränderungen des N- und Phosphatidgehaltes der aus abgehärteten und nicht abgehärteten Pfianzen gewonnenen Preßsäfte beim Gefrieren.

Tem-		mg N in 10 c	m³ bzw. mg l	Mg.P,O, in 100	0 cm <sup>s</sup> Preßsa	ft		
pera-		abgehärtet		nicht abgehärtet				
tur • C	E. N	1. N	Mg <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	E. N	1. N	Mg <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>		
0 —15	128,55 119,00	91,00 85,40	12,73 8,84	116,20 89,20	86,10 88,80	11,8 3,8		

Einfluß des Abhärtens machte sich in deutlicher Weise bei der Ausfällung der N-Substanzen bemerkbar: In dem aus den abgehärteten Pflanzen hergestellten Saft betrug der Verlust etwa 4 % bzw. 6 % der einzelnen Fraktionen. Im anderen Falle nahm der lösliche N ebenfalls nur wenig ab; die Ausfällung des sogenannten Eiweiß-N betrug aber über 60 % des ursprünglichen Gehaltes. Daß dieser Unterschied nicht auf den höheren Wassergehalt der nicht abgehärteten Pflanzen bzw. auf die geringere Lösungskonzentration des daraus gewonnenen Preßsaftes zurückzuführen war, hat kürzlich Mudra (5) in ähnlichen Versuchen gezeigt. Mudra verdünnte nämlich den aus abgehärteten Pflanzen erhaltenen Preßsaft mit einer entsprechenden Menge Wasser. Die Niederschlagsbildung erreichte dieselbe Größe wie im unverdünnten Saft. Die Versuche Mudras werden durch die eigenen dahin erweitert, daß von der Ausfällung vor allem die durch Tannin fällbaren N-Körper betroffen werden.

Was das Verhalten der Phosphatide betrifft, so läßt sich aus der Tabelle ableiten, daß sie allgemein in stärkerem Maße ausgefällt wurden als die N-haltigen Substanzen. Bei dem von abgehärteten Pflanzen stammenden Preßsaft war der Verlust durch das Gefrieren wesentlich geringer als bei dem aus nicht abgehärteten Pflanzen gewonnenen Saft. Aus dem Verhältnis des Anteils der ausgeschiedenen N-Menge vom Gesamt-N-Gehalt zu dem Anteil der ausgeschiedenen Phosphatidmenge vom Gesamtphosphatidgehalt des Preßsaftes aus abgehärteten Pflanzen kann entnommen werden, daß die Phosphatide nicht mit den Eiweißstoffen in den Niederschlag gerissen, sondern daß sie unabhängig von jenen ausgefällt wurden.

Das Ergebnis dieser Versuche läßt sich kurz dahin zusammenfassen, daß im Preßsaft von Weizenpflanzen gelöste Phosphatide durch das Gefrieren denaturiert und ausgefällt werden und ferner, daß das Ausmaß dieser Fällung von dem Abhärtungszustande der Pflanzen abhängig ist derart, daß die Phosphatide ebenso wie die Eiweißstoffe in Preßsäften aus frostresistenteren Pflanzen gegenüber Entquellung stabiler sind und

in geringerem Maß ausgefällt werden als jene, die in Preßsäften von nicht abgehärteten und frostempfindlicheren Pflanzen enthalten sind. In dem Ausfall dieser Versuche kann demnach ein weiterer Beweis dafür gesehen werden, daß die Phosphatide für die Frostresistenz der pflanzlichen Zellen von hervorragender Bedeutung sind.

#### C. Zusammenfassung.

Die vorliegende Studie über die Bedeutung der Lipoide bzw. der Phosphatide für die Frostresistenz der Pflanzen war veranlaßt durch die unterschiedliche Frostresistenz der bei abgestufter N- und P-Düngung gewachsenen winterfesten Pflanzen. Ein Einfluß dieser Körperklasse auf die Gefrierbeständigkeit der Zellen war zu erwarten, da die Lipoide auf Grund ihrer spezifischen kolloidchemischen Eigenschaften an der Ausbildung der besonderen Struktur des Protoplasmas beteiligt sind und außerdem speziell für Lecithin bekannt ist, daß es als Schutzkolloid für Proteine dienen kann. Eine Veränderung sowohl ihrer Eigenschaften als auch ihrer Menge mußte demnach zu einer Änderung der inneren Stabilität der Plasmastruktur und der Biokolloide führen, die besonders bei Entquellungsvorgängen, mit denen bei der Eisbildung in jedem Falle zu rechnen ist, zu einer Zerstörung der Leistung und somit zum Tode des Protoplasmas führen konnte. Den theoretischen Voraussetzungen entsprachen ganz die bisher erzielten Versuchsergebnisse:

- 1. Durch eine direkte Beeinflussung der Lipoide mittels verschiedener spezifischer Reagenzien, sogenannter Lipoidveränderer, wurde die Frostresistenz von Rotkohlzellen in deutlicher Weise erniedrigt.
- 2. Beim Gefrieren von Preßsäften aus jungen Weizenpflanzen wurden Phosphatide in irreversibler Weise verändert und ausgefällt.

Die in Preßsaft von abgehärteten Pflanzen enthaltenen Phosphatide wurden ebenso wie die Eiweißstoffe in geringerem Maße ausgefällt als die im Preßsaft nicht abgehärteter Pflanzen vorhandenen; oder m.a. W. entsprechend der größeren Frostresistenz abgehärteter im Vergleich zu der nicht abgehärteter Pflanzen wurden durch den Abhärtungsprozeß die Phosphatide ebenso wie die Eiweißstoffe stabiler gegenüber dem Ausfrieren.

3. Die bei N- oder P-Mangel sowie die bei N-Überschußernährung gewachsenen Gerstenpflanzen, die bei kurz dauernder Frosteinwirkung stets am empfindlichsten waren, wiesen den relativ geringsten Phosphatidgehalt auf.

Die Frostresistenz der bei abgestufter N- und P-Ernährung gewachsenen winterfesten Pflanzen wird demnach von ihrem Phosphatidgehalt in maßgeblicher Weise bestimmt.

#### Literatur.

- 1. Boas, F. Die Pflanze als kolloides System. Datterer, Freising 1928.
- 2. Czapek, F. Biochemie der Pflanzen. Bd. I, S. 763.
- 3. Höber, R. Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 6. Auflage 1926.
- Maximov, N.A. Chemische Schutzmittel gegen das Erfrieren der Pflanzen. I. Ber. der Deutsch. Bot. Ges. Bd. 30, 1912.
- 5. Mudra, A. Zur Physiologie der Kälteresistenz des Winterweizens. Planta Bd. 18. 1932.
- Schaffnit, E., und Wilhelm, A.F. Kühlversuche mit verschieden ernährten Pflanzen und Untersuchungen über deren Stoffwechselphysiologie. Phytopathol. Zeitschr. Bd. 6, 1933.
- Wartenberg, H., in Sorauer: Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Bd. I, 1. Teil, 1933.
- 8. Wilhelm, A.F. Untersuchungen über die Kälteresistenz winterfester Kulturpflanzen unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses verschiedener Mineralsalzernährung und des N-Stoffwechsels. Phytopath. Zeitschr., Bd. 8, Heft 2.
- Winterstein, E. Darstellung von Phosphatiden aus Pflanzen. In Abderhalden: Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. Abt. I. Teil 6.

#### Aus dem Phytopathologischen Laboratorium "Willie Commelin Scholten" in Baarn.

Direktor: Prof. Dr. Joha Westerdijk.

#### Weitere Untersuchungen über den Nachweis biologischer Rassen des Gerstenzwangrostes, Puccinia simplex Erikss. et Henn.

Von

#### Liselotte Ronsdorf.

#### I. Einleitung.

Bisher hat man sich, um verschiedene biologische Rassen von Puccinia simplex in Europa nachzuweisen, des von Hey (4) aufgestellten Standardsortiments bedient, das zehn verschiedene Gerstensorten umfaßt. Bis jetzt sind vermittels dieses Standardsortiments neun unterschiedliche Rassen festgestellt worden (Ronsdorf, 8). In Amerika hat Mains (5) schon früher ein anderes Standardsortiment aufgestellt, das 17 verschiedene Gerstensorten umfaßt, und darauf zwei ungleiche Rassen des Gerstenzwergrostes nachgewiesen.

Hier sollte untersucht werden, wie sich einige für Deutschland gefundene Rassen auf dem von Mains angegebenen Standardsortiment verhalten, ob also in Amerika und Europa die gleichen Zwergrostrassen vorkommen. Dabei ergibt sich die zweite Frage, kommen in Amerika und Europa die gleichen Zwergrostrassen vor, ist das Standardsortiment von Mains zum Nachweis der europäischen Rassen geeignet, und ließe sich eventuell das Standardsortiment von Hey durch die amerikanischen Gerstensorten erweitern?

#### II. Methodik.

Zu den vorliegenden Untersuchungen wurden folgende amerikanische Gerstensorten verwendet:

Featherston	C. I.	1120			٠	Callas	C. I. 2440
Oderbrucher	C. I.	940				Mecknos Meroc	C. I. 1397
Oderbrucher	C. I.	957				Quinn	C. I. 1024
Malting	C. I.	1129				Peruvian	C. I. 935
Manchuria	C. I.	2880				Bolivia	C. I. 1257
Horsford	C. I.	507		•		Juliaca	C. I. 1114
Horsford							
Hanna							

Die von Mains ebenfalls verwendeten Sorten Unnamed C. I. 1347, Hooded Spring C. I. 716 und Juliaca C. I. 2329 waren nicht zu erhalten.

Die Gerstensorten wurden durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Professor Mains von den Agricultural Experimental Stations überlassen. Beiden bin ich sehr zu Dank verbunden.

Die zu prüfenden Rassen waren sämtlich aus Einsporen isoliert worden. Rasse II und V stammten von Hey, Rasse III, IV und IX waren von mir selbst früher in Braunschweig-Gliesmarode bestimmt (s. Ronsdorf, 8). Die Versuche wurden im Gewächshaus bei zwei verschiedenen Temperaturen ausgeführt. Je acht bis zehn Gerstenpflanzen befanden sich in Töpfen von etwa 8 cm Durchmesser. Diese Pflanzen wurden im Einblattstadium durch Auftragen einer Aufschwemmung frischer Uredosporen mittels Wattepinsels geimpft (s. Gaßner und Appel, 1). Zwei Tage verblieben die geimpften Pflanzen zur Erreichung einer hohen Luftfeuchtigkeit unter Glocken auf feuchtem Torfmull. Danach standen sie unbedeckt im Gewächshaus.

Die Gerstenpflanzen wurden jeweils gedüngt mit 7,5 ccm einer 1,5% igen NaNO<sub>3</sub>-Lösung pro Topf, da ohne Düngung häufig Spitzenchlorose und schnelleres Vergilben der Blätter eintritt, was einen niedrigeren Befallstyp vortäuschen kann (siehe Gaßner und Straib, 2, Gaßner und Hassebrauk, 3).

Der Grad der Resistenz bzw. Anfälligkeit wurde festgestellt nach dem Schema von Mains. Die Ablesungen erfolgten, nachdem die Rostpusteln aufgebrochen waren und stäubten. Für jeden Versuch, der mindestens ein- bis zweimal wiederholt wurde, sind zweimal acht bis zehn Pflanzen verwendet und gegen die verschiedenen Rassen bei der jeweils angegebenen Temperatur geprüft. Die Versuche wurden ausgeführt von November 1933 bis April 1934.

## III. Versuche zum Nachweis der Rassen II, III, IV, V und IX auf dem Standardsortiment von Mains bei zwei verschiedenen Temperaturen.

Die Versuche von Mains (5) sind bei ein und derselben Temperatur ausgeführt. Da aber die Arbeit von Hey (4) gezeigt hat, daß sich auch beim Gerstenzwergrost der Befallstyp bei verschiedenen Temperaturen wesentlich ändern kann, wurden die Untersuchungen bei zwei verschiedenen Temperaturen im Durchschnitt, nämlich 12° und 22° durchgeführt.

Zu Vergleichszwecken sind hier die Resultate von Mains (5) mit in die Tabelle aufgenommen.

Die Tabelle zeigt:

1. Daß sich die verschiedenen Gerstensorten bei höherer und niedrigerer Temperatur nicht gleich verhalten. Hier wird meistens eine stärkere Anfälligkeit bei niedrigerer Temperatur erreicht. So z. B. zeigt die

Befallstypen von Rasse II, III. IV, V und IX auf 10 Gerstensorten (Mains) bei zwei verschiedenen Temperaturen. Tabelle 1.

Grenzwerte: 15-30 °C 5-23 °C Töpfe gedüngt mit 7,5 ccm einer 1,5 % igen NaNOs-Lösung je Topf. Durchschnitt der Temperaturen: 22,2°C

12,4°C

Physiologische Rasse		п	Ш	IV	Λ	IX	Phys. Form L-(Mains)	Form II (Mains 1929)
	emperatur • C	12 22	12 22	12 22	12 22	12 22		
	Teatherston	4 4	4 4	44	44	44	0-1 0-1 0-1 0-1 0-1 0-1 0-1 0-1	3-43-4
	Офегьтаскег 940	44	44	4	4 4	44	0-1	8-4
	Одегргискет 957	44	44	44	44	44	) <del>-</del> 1	4
	Malting	44	4 4	44	44	44	)-1	4
	Manchuria	44	44	44	4 4	4 4	1-1	7
	703 brotsroH	44	4 4	4 4	44	4 4	-10	4
	T78 broisioH	44	44	44	44	44		4
	Hanna	44	44	44	44	44	4	7
Ð	Callas	3-4	8 8	3-4	3—4 (3)	3—4 2—3	0-2	1-2
Gerstensorten	<b>Мескло</b> в <b>Мет</b> ос	3-2	3 <u>-2</u>	63 65	3—2 3	3-2	0-1	1-2
rten	aginp91A	3-4	2—3 3	3-3 3-2 (3)	2 — 3 3 — 2	8 3 4 4	0-1	0-1
	пеічите	3—4 (3) 3—2	4—8 2—3 (2—1)	4-8 2-3	3 – 4 2 – 3	3-4	0-1	0-8
	Quine	010	по	00	0-1	2-1 0	0	0-1
	Bolivia	200	3-8	S4 S4	S20 C21	2 - 3 1 - 2	0-1	0-1
	asailnt	3-4	3-4 (3)	3-4 (3) 3-4	3-4	3-4 (8) 3-8	0-1	110

Sorte Quinn bei 22° sehr wenig nekrotische Flecken, dagegen sind bei 12° die Flecken sehr viel zahlreicher geworden und der Pilz geht zur Fruktifikation über. Immerhin ist der Befallstyp sehr niedrig, so daß die Sorte Quinn sowohl für die amerikanischen als auch für die fünf hier geprüften Zwergrostrassen eine höchst resistente Sorte vorstellt. Die Sorten Callas, Peruvian, Bolivia und Juliaca werden ebenfalls anfälliger bei niedrigerer Temperatur, während die Sorten Arequipa und Mecknos Meroc eine erhöhte Resistenz bei niedrigerer Temperatur zeigen. Die stark anfälligen Sorten ändern ihren Befallstyp nicht.

Auffällig ist bei der Hannagerste, was aus Tabelle 1 nicht hervorgeht, daß bei 12° die Sekundärblätter eine starke Infektion zeigen, obgleich allein die Primärblätter geimpft waren. Selbst die Tertiärblätter zeigen nach drei Wochen Infektion.

2. Daß die fünf in sich verschiedenen Rassen auf dem amerikanischen Sortiment sehr geringe Unterschiede aufweisen und wie eine Rasse wirken. Wohl sind sie verschieden von den zwei physiologischen Rassen von Mains. Wir hätten also hier nach Mains eine dritte biologische Rasse vor uns, die sich von den beiden amerikanischen Rassen dadurch unterscheidet, daß sie auf den Sorten Callas, Mecknos Meroc, Arequipa, Peruvian, Bolivia und Juliaca einen höheren Befallstyp aufweist als die beiden von Mains gefundenen Rassen. Tatsächlich liegen aber nicht eine, sondern fünf physiologische Formen vor, die nachweisbar deutliche Unterschiede auf dem Standardsortiment von Hey zeigen (s. Ronsdorf, 8).

Das legt die Vermutung nahe, daß das Standardsortiment von Mains zum Nachweis der biologischen Rassen nicht geeignet ist.

Daraus ergibt sich eine neue Fragestellung, nämlich ob nicht in Amerika tatsächlich mehr als die zwei bisher nachgewiesenen physiologischen Formen des Gerstenzwergrostes vorkommen.

### IV. Versuche zum Nachweis biologischer Rassen aus Amerika auf dem Standardsortiment von Hey.

Um dieser Frage nachzugehen, haben wir Herrn Professor Mains gebeten, uns Gerstenzwergrostmaterial aus Amerika zu schicken. Liebenswürdigerweise sandte er uns Gerstenpflanzen aus Michigan, die mit *Puccinia simplex* infiziert waren, wofür ich ihm meinen verbindlichsten Dank sage.

Ausgegangen wurde bei den folgenden Versuchen von Einsporkulturen, die nach dem Verfahren von Pieschel (7) hergestellt waren. Leider sind von 150 Einsporkulturen nur drei angegangen. Die Ursache dafür dürfte in der hohen Temperatur des Gewächshauses während der heißen Sommermonate zu suchen sein. Durch die ungenügende Zahl von Einsporlinien konnte die Frage leider nicht zur vollständigen Zufriedenheit geklärt werden.

Bis reichlich Material zur Durchführung der Versuche vorhanden war, wurden die Einsporlinien auf Heines Hanna Sommergerste vermehrt, die sich als anfällige Sorte erwiesen hatte.

Die drei erhaltenen Einsporlinien wurden auf dem von Hev verwendeten Standardsortiment geprüft. Dieses Standardsortiment wurde uns vom Institut für Landwirtschaftliche Botanik Braunschweig-Gliesmarode (Professor Gaßner) und von der Biologischen Reichsanstalt, denen ich dafür bestens danke, überlassen und umfaßt folgende Sorten:

> Hordeum hexastichum curvlepis. Hordeum hexastichum recens, Hordeum vulgare speciale. Breustedts Schladener. Friedrichswerther Berg, Sommer-Gerste, Australische Recka. Samaria, vierzeilige, Hordeum vulgare pallidum (Sudan), Lichtis Lechtaler, Ackermanna Bavaria.

Die Sorte Ägyptische Sommergerste konnte aus Saatgutmangel nicht in die Versuche einbezogen werden.

Die Aufstellung der Versuchspflanzen erfolgte bei durchschnittlich 26°C. Die Anzucht der Pflanzen hatte bei derselben Temperatur stattgefunden. Geimpft und weiter behandelt wurden die Pflanzen wie oben. Die Versuche wurden ausgeführt von Juni bis September 1934.

Tabelle 2. Befallstypen von drei Einsporlinien aus Michigan auf zehn Gerstensorten (Hey). Gedüngt mit 7,5 ccm einer 1,5 % igen NaNOa-Lösung je Topf. Temperatur: 26 ° C.

-	Gerstensorten											
Einspor- linien	Hordcum hexastichum eurylepis	Hordeum hexastichum recens	Hordcum vulgare speciale	Breustedts Schladener	Friedrichs- werther Berg	Australische Recka	Samaria 4 zeil.	Hordeum vulgare pallidum	Lichtis Lechtaler	Ackermanns Bavaria.		
1 2 8	4-8 4 4	8 8 8	0-1 0 3-2	2-2 0-1 3-2	0-1 1 4-3	8-2	4 4-8 8-4	4-8 8 4 4-8	2-1 2-1 4-8	8 <u>-</u> 2		

Aus der Tabelle 2 geht hervor, daß sich die drei Einsporlinien auf dem Standardsortiment von Hey bezüglich des Befallsbildes ungleich verhalten. Die größten Unterschiede weisen Linie 1 und 3 auf. Der Befallstyp von 3 ist durchschnittlich bedeutend höher als der von 1. Linie 2 unterscheidet sich von Linie 1 durch den bedeutend niedrigeren Befallstyp auf der Breustedts Schladener Gerste.

Die aus Amerika isolierten Linien stimmen mit keiner der von Heyoder Ronsdorf isolierten Rassen bei derselben Temperatur überein. Also

müssen in Amerika noch andere Rassen von Gerstenzwergrost vorkommen als die in Europa beschriebenen.

Die umfangreichen Untersuchungen von Mains (5, 6) haben ergeben, daß in Amerika zwei physiologische Formen des Gerstenzwergrostes vorkommen. Da nun aber, wie oben ausgeführt, aus einer amerikanischen Rostherkunft von mir auf dem Standardsortiment nach Hey aus drei Einsporlinien zwei, wenn nicht drei Rassen gefunden wurden, so ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß neue physiologische Formen gefunden wurden. Es ist allerdings zu betonen, daß die Rostherkunft Michigan nicht auf dem Mainsschen Standardsortiment geprüft wurde und so keine direkte Beziehung möglich ist. Da aber die unterschiedlichen Befallsbilder europäischer Gerstenzwergrostherkünfte nach dem Standardsortiment von Hey auf dem von Mains nicht hervortreten, so ergibt sich, daß das von Mains aufgestellte Sortiment nicht zur Diagnose von Gerstenzwergrostherkünften geeignet ist.

#### V. Zusammenfassung.

Aus den vorliegenden Untersuchungen geht hervor:

- 1. Daß sich fünf mit Hilfe des Standardsortiments von Hey unterschiedene Gerstenzwergrostrassen auf dem Standardsortiment von Mains nicht als verschiedene Rassen nachweisen lassen.
- 2. Daß die Temperatur wieder von Einfluß auf das Befallsbild ist und hier niedrige Temperatur den Befallstyp meistens erhöht, selten erniedrigt.
- 3. Aus den vergleichenden Untersuchungen mit Hilfe der Standardsortimente von Mains und Hey ergibt sich, daß das Sortiment von Hey dem von Mains überlegen ist.

Vorliegende Arbeit wurde mit Hilfe des Dr. C. Duisberg-Stipendiums im Laboratorium voor Phytopathologie in Baarn (Holland) ausgeführt. Der Dr. C. Duisberg-Stiftung möchte ich auch an dieser Stelle meinen aufrichtigen und ergebensten Dank aussprechen. Sehr zu Dank bin ich auch Frau Professor Dr. Westerdijk verpflichtet für die Überlassung der Mittel des Instituts und für ihr stetes Interesse an den Versuchen. Ebenfalls danke ich der Stiftung Willie Commelin Scholten für die gewährte Gastfreiheit.

#### Literatur.

- 1 Gassner, G. und Appel, G. O. Untersuchungen über Infektionsbedingungen der Getreideobstpilze. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt, 15, 1927, S. 417.
- 2 Gassner, G. und Straib, W. Die Bestimmungen der biologischen Rassen des Weizengelbrostes (Puccinia glumarum f. sp. tritici [Schmidt]. Erikss. et Henn.). Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt, 20, 1932, S. 141.
- 3 Gaßner, G. und Hassebrauk K. Der Einfluß der Mineralsalzernährung auf das Anfälligkeitsverhalten der zur Rassenbestimmung von Getreiderosten dienenden Standardsortimente. Phytopathologische Zeitschrift, 7, 1934, S. 63.
- 4 Hey, A. Beiträge zur Spezialisierung des Gerstenzwergrostes, *Puccinia simplex* Erikss. et Henn. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt, 19, 1931, S. 57.
- 5 Mains, E. B. Host specialisation of barley leaf rust Puccinia anomala. Phyto-pathology, 20, 1930, S. 873.
- 6 Mains, E. B. and Martini, Mary, L. Succeptibility of barley leaf rust (*Puccinia anomala*) and to powderry mildew (*Erysiphe graminis hordei*). U. S. Technical Bulletin, 295, 1932, S. 1.
- 7 Pieschel, E. Erfahrungen über Einsporimpfungen mit Getreiderostpilzen. Phytopathologische Zeitschrift, 3, 1931, S. 89.
- 8 Ronsdorf, L. Einige Versuche über biologische Rassen des Gerstenzwergrostes. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt, 21, 1934, S. 109.

#### Aus der Bundesanstalt für Pflanzenschutz in Wien.

## Über die Verwendbarkeit von Wasserstoffsuperoxyd als Saatgutbeizmittel.

Von

#### Friedrich Pichler.

In dieser Zeitschrift (Bd. VI, S. 409 bis 426) haben Kisser und Portheim ihre im Laboratorium durchgeführten Versuche mit Wasserstoffsuperoxyd als Saatgutbeizmittel mitgeteilt. Da ihre Ergebnisse mit meinen sowohl im Laboratorium als auch im Freiland gewonnenen Resultaten nicht vollkommen übereinstimmen, sei im folgenden auf die Arbeit von Kisser und Portheim näher eingegangen und gleichzeitig die Ergebnisse meiner Versuche mit Wasserstoffsuperoxyd als Saatgutbeizmittel mitgeteilt.

Nach dem Titel der Arbeit von Kisser und Portheim ("Versuche über die Verwendbarkeit von Wasserstoffsuperoxyd als Saatgutbeizmittel") zu schließen, wollten die Verfasser feststellen, ob Wasserstoffsuperoxyd als Saatgutbeizmittel verwendbar sei. Tatsächlich haben, jedoch Kisser und Portheim bei ihren Versuchen geprüft, ob durch Wasserstoffsuperoxyd eine "Totaldesinfektion" im Sinne von Pringsheim (Angew. Bot., 10. Bd., 1928) erreicht werden kann. Pringsheim unterscheidet nämlich zwischen "Samendesinfektion" und "Totaldesinfektion". Unter "Samendesinfektion" (von ihm auch "Beizung" genannt) versteht er die Vernichtung der Krankheitserreger, unter "Totaldesinfektion" die Abtötung sämtlicher am Saatgut hängenden fremden Organismen unter Erhaltung der Keimfähigkeit. Die Samendesinfektion stellt somit die in der Praxis übliche Beize dar, bei der es darauf ankommt, die am Saatgut befindlichen Keime von Krankheitserregern wie Brand, Fusarium, Streifenkrankheit usw. abzutöten, oder sie wenigstens in ihrer weiteren Entwicklung so zu hemmen, daß sie für die Pflanze nicht mehr schädlich werden können. Eine absolut sichere Abtötung sämtlicher am Saatgut befindlichen fremden Organismen wird nicht angestrebt, da die anderen Keime von

Organismen für die Pflanze belanglos sind. Eine Totaldesinfektion ist daher für die landwirtschaftliche Praxis zwecklos und würde oft stärkere Konzentrationen der Desinfektionslösungen erfordern, um sehr widerstandsfähige Sporen, z. B. von manchen Schimmelpilzen, vollkommen abzutöten. Sie kommt auch nur für wissenschaftliche Versuche in Betracht, bei denen Pflanzen aus oberflächlich vollkommen sterilen oder mit ganz bestimmten Organismen geimpften Samen, bzw. Früchten gezüchtet, oder Untersuchungen an Samen durchgeführt werden sollen, bei denen anhaftende fremde Organismen störend wirken würden.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß manche in der Bakteriologie bewährte Desinfektionsmittel (z. B. einige organische Chlorverbindungen) für die Zwecke der Saatgutbeize nicht brauchbar sind, da sie die in Betracht kommenden Krankheitserreger nicht abtöten. Es können daher nicht alle bakterizid wirkenden Mittel für die Saatbeize verwendet werden, wie auch umgekehrt nicht alle als Saatgutbeizmittel bewährten Präparate brauchbare Desinfektionsmittel für Bakterien und andere Pilze darstellen müssen. Die Ergebnisse der Untersuchungen von Kisser und Portheim können schon aus diesem Grunde für eine Begutachtung der Verwendbarkeit von Wasserstoffsuperoxyd als Saatgutbeizmittel nicht herangezogen werden, zumal auch mit Ausnahme von zwei Versuchen niemals mit den Erregern der wichtigsten Getreidekrankheiten gearbeitet wurde.

Um die Widerstandsfähigkeit von Weizensteinbrandsporen gegen Wasserstoffsuperoxyd zu prüfen, wurden von Kisser und Portheim zwei Versuche durchgeführt. Bei dem einen Versuch versetzten sie einen Tropfen einer "dicken Sporensuspension" mit zehn Tropfen von 1-, 5-, 10-, 20- und 30% igem Wasserstoffsuperoxyd und ließen 20 Minuten einwirken. Abgesehen davon, daß solche Tropfen kein genaues Maß bilden und eine "dicke Sporensuspension" auch keine genaue Angabe über die Menge der verwendeten Brandsporen ist, stellt dieses Verfahren keine Benetzungsbeize, wie sie von Kisser und Portheim aber bei allen anderen Versuchen angewendet wurde, sondern eine Tauchbeize dar. Bei dem zweiten Versuch benutzten Kisser und Portheim einen mit Steinbrandsporen infizierten Weizen und versetzten diesen mit 6 % eines 30 % igen. bzw. 12% eines 15% igen Wasserstoffsuperoxyds. Nach Ablauf von drei Stunden wurden die Sporen von den Körnern mit Wasser abgespült und auf Agarplatten ausgestrichen. Die verwendete Menge von Wasserstoffsuperoxyd (6, bzw. 12 Liter für 100 kg Saatgut) ist aber wegen des verhältnismäßig hohen Preises des Präparates praktisch nicht anwendbar, da dann die Kosten des Beizens mit Wasserstoffsuperoxyd ein Vielfaches von dem betragen würden, was sonst die üblichen Beizpräparate erfordern. Hinzu kommt noch, daß manche Weizensorten gegen Beizung mit Wasserstoffsuperoxyd sehr empfindlich sind und schon, wie später noch ausführlicher besprochen werden soll, durch eine Behandlung mit 3 % eines 30% igen Wasserstoffsuperoxyds in ihrer Keimung stark geschädigt werden. Kisser und Portheim erwähnen selbst (S. 420), "daß bei Weizen nur mit relativ geringen Mengen von Beizflüssigkeit gearbeitet werden darf". Warum Kisser und Portheim trotzdem mit der doppelten (6%) Menge, als zur vollkommenen Benetzung des Weizens hinreichend genügen würde, ihre Versuche über die Widerstandsfähigkeit der Weizensteinbrandsporen gegen Wasserstoffsuperoxyd durchgeführt haben, ist nicht ganz erklärlich. Wenn Kisser und Portheim bei diesem Versuch auch vollkommene Abtötung der behandelten Sporen erzielen konnten, so ist dieser Versuch doch für die Praxis vollkommen belanglos, da bei diesen Mengen von Wasserstoffsuperoxyd das Saatgut noch leichter geschädigt werden könnte als bei Behandlung mit 3%.

Die mit Wasserstoffsuperoxyd behandelten (gebeizten) Sporen wurden von Kisser und Portheim auf Agar, der mit einer verdünnten Kalziumnitratlösung befeuchtet war, zum Keimen ausgesät. Diese Methode wird bei Untersuchungen von gebeizten Sporen auf ihre Keimfähigkeit von anderen Versuchsanstellern nicht benützt. Als Keimmedium werden bekanntlich Erde, das in Erde befindliche Samenkorn oder eine 0,1 bis 0,25% ige Kalziumnitratlösung verwendet. Die Verwendung von Agarnährböden kommt schon deshalb nicht in Betracht, da sie vollkommen steriles Arbeiten erfordert, was die Durchführung der Versuche ganz wesentlich erschweren würde. Außerdem findet auf Agar das Auskeimen der Brandsporen niemals in so üppiger Weise statt wie auf Erde oder auf einer Kalziumnitratlösung.

Aus dem Angeführten ersieht man, daß die Versuche von Kisser und Portheim für eine Beurteilung der Verwendbarkeit von Wasserstoffsuperoxyd als Saatgutbeizmittel nicht herangezogen werden können, da teils Wasserstoffsuperoxyd nicht als Saatgutbeizmittel geprüft wurde, teils Methoden zur Untersuchung verwendet wurden, die den natürlichen und praktischen Verhältnissen nicht entsprachen.

Mit Recht bemerken Kisser und Portheim, daß die meisten unserer bis jetzt üblichen Saatgutbeizmittel infolge ihres Gehaltes an starken Giften, insbesondere an Quecksilber, eine Gefahr für Menschen, Tiere und schließlich für die Pflanzen selbst bedeuten. Äußerst wünschenswert wäre es daher sicherlich, wenn es gelänge, Saatgutbeizmittel in den Handel zu bringen, welche keine schweren Gifte enthalten, dabei aber gleiche Wirksamkeit bei gleichen Beizkosten besitzen würden. Wasserstoffsuperoxyd wäre in der Hinsicht ein ideales Beizmittel, da es beim Kontakt mit der Frucht-, bzw. Samenschale rasch in Wasser und Sauerstoff gespalten wird. Die Österreichischen Chemischen Werke Ges. m. b. H. sind daher an unsere Anstalt mit dem Ersuchen herangetreten, ihr als techinisches Produkt erzeugtes Wasserstoffsuperoxyd als Saatgutbeizmittel zu

erproben. Das Präparat wurde sowohl im Laboratorium gegen Weizensteinbrand, als auch im Freiland an Weizen gegen Steinbrand, an Gerste gegen Hartbrand und an Hafer gegen Flugbrand geprüft.

Laboratoriumsuntersuchungen. Kadolzer Winterweizen, der mit 0,5% Steinbrandsporen bestäubt war, wurde mit 3% einer 30-, 15- und 10% igen Wasserstoffsuperoxydlösung in passenden Tubusgläschen innig vermischt und das behandelte Saatgut - entweder sofort nach der Behandlung oder nach 6- und 24 stündiger Aufbewahrung in den Gläschen - in Erde bei Zimmertemperatur zum Keimen ausgelegt. Am 5., 7. und 10. Tag wurde ein Teil der Körner vorsichtig aus der Erde genommen, die am Korne haftenden Brandsporen in je einem Tropfen Wasser, der sich auf einem Objektträger befand, verteilt und hierauf die Aufschwemmung mikroskopiert. Diese Untersuchung auf Keimfähigkeit der behandelten Sporen ergab, daß 10- und 15% ige Wasserstoffsuperoxydlösung gegen Weizensteinbrand wirkungslos war. Die behandelten Brandsporen keimten nämlich ebenso zahlreich wie die unbehandelten. Die mit 30%iger Wasserstoffsuperoxydlösung behandelten Sporen keimten wohl nur sehr vereinzelt, immerhin aber genug, um auf einen nennenswerten Befall schließen zu können. Ein Unterschied in der Wirkung von Wasserstoffsuperoxyd, wenn das Saatgut sofort oder erst nach mehrstündiger (6, bzw. 24) Lagerung angebaut wurde, war nicht zu bemerken.

Freilandversuche. 1. Gegen Weizensteinbrand. Wieselburger Kolbenwinterweizen, welcher mit 0,5 % Steinbrandsporen bestäubt war, wurde an drei verschiedenen Versuchsorten (A, P und W) in je vierfacher Wiederholung zu verschiedenen Anbauzeiten (12. Oktober in P, 23. Oktober in W und 30. Oktober in A) angebaut. Parzellengröße 1 m<sup>2</sup>.

	Brandige	Åhren in	Prozenten			
	Versuchsfeld					
Behandlung	A	P	W			
	Durchschnitt von je vier Aussaaten					
8°/ <sub>9</sub> vom 30°/ <sub>e</sub> igen H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . Benetztes Saatgut 6 Stunden liegen gelassen	5,3	<b>_15,9</b>	0,7			
liegen gelassen	16,2	41,9	4,7			
gelassen	9,8	85,2	2,8			
liegen gelassen	26,8 16,5	42,2 86.1	4,8 19.2			

2. Gegen Gerstenhartbrand. Mit Hartbrand infizierte Wintergerste wurde am 11. Oktober in vierfacher Wiederholung angebaut. Parzellengröße 1 m².

Deben Alman	Brandige Ähren in Prozenten
Behandlung	Durchschnitt von vier Aussaaten
3°/0 vom 30°/0 igen H <sub>1</sub> O <sub>2</sub> . Benetztes Saatgut 6 Stunden liegen gelassen	1,1
gelassen	0,9 0,0
gelassen	0,9 0,6

3. Gegen Haferflugbrand. A. Kleinbeizversuch. Mit Haferflugbrand infizierter Hafer wurde am 27. April in vierfacher Wiederholung angebaut. Parzellengröße 1 m².

D.L. Jlan.	Brandige Rispen in Prozenten
Behandlung	Durchschnitt von vier Aussaaten
4°/ <sub>0</sub> vom 30°/ <sub>a</sub> igen H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . Benetztes Saatgut 2 Stunden liegen gelassen 5°/ <sub>0</sub> vom 30°/ <sub>0</sub> igen H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . Benetztes Saatgut 2 Stunden liegen gelassen 4°/ <sub>n</sub> vom 15°/ <sub>o</sub> igen H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . Benetztes Saatgut 2 Stunden liegen gelassen	0,4 1,0 1,6
5 % vom 15 % igen H.O. Benetztes Saatgut 2 Stunden liegen gelassen	0,7 2,2

B. Großbeizversuch. Mit Haferflugbrand infizierter Hafer wurde am 6. April in achtfacher (Kontrolle in achtzehnfacher) Wiederholung angebaut. Parzellengröße 50 m². Das benetzte Saatgut blieb immer zwei Stunden liegen.

Angelong of Banacing, All of St. March St. Co. and T. Co. Co. Co. Co. Co. Co. Co. Co. Co. Co	Zahl der brandigen Rispen auf 50 m <sup>9</sup>
	Durchschnitt von je 8 (Kontrolle 18) Parzellen
5 % vom 30 % igen H <sub>2</sub> O	 7,4 22,4 27,6 32,8 40,7

Die Ergebnisse der Freilandversuche haben die Resultate der Laboratoriumsuntersuchungen bei Weizensteinbrand bestätigt und bewiesen, daß nach dem Kurznaßbeizverfahren eine Benetzung mit 3 % eines 10-

und 15% igen Wasserstoffsuperoxyds vollkommen unbefriedigend wirkt. Selbst die Wirkung eines 30% igen Wasserstoffsuperoxyds genügt lange noch nicht den praktischen Anforderungen, da selbst im Kurznaßbeizverfahren mit den gebräuchlichsten Saatgutbeizmitteln (3% einer 2% igen Lösung z. B. von Ceresan Naßbeize, Germisan oder Salvocer Naßbeize) bei den Freilandversuchen wesentlich bessere Erfolge erzielt wurden, abgesehen davon, daß durch bewährte Trockenbeizen, insbesondere aber durch Anwendung oben genannter Naßbeizen im Tauchverfahren der Brandbefall auf den gebeizten Parzellen immer unter 1%, in vielen Fällen sogar fast auf 0 herabgedrückt wurde.

Bei den Versuchen gegen Gerstenhartbrand war leider der Brandbefall auch bei der unbehandelten Kontrolle sehr schwach. Trotzdem hat die Wasserstoffsuperoxydbehandlung des Saatgutes in keiner der angewandten Konzentrationen einen Erfolg erkennen lassen. Daß bei einem Versuch gegen Gerstenhartbrand (15 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) kein Brandbefall auftrat, ist in Anbetracht der anderen ungünstigen Ergebnisse nur als ein Zufall zu werten.

Die Ergebnisse der Freilandversuche bei Haferflugbrand sind ähnlich wie die bei. Weizensteinbrand. Die beste Wirkung zeigte die Benetzung mit 5% eines 30% igen Wasserstoffsuperoxyds, doch war diese immer noch ungenügend und blieb weit hinter der anderer Saatbeizen zurück.

Was die Keimschädigungen des behandelten Saatgutes betrifft, so haben meine Versuche die gleichen Ergebnisse gezeigt wie die betreffenden Versuche von Kisser und Portheim. Hafer und Gerste wurden durch eine Behandlung mit 3%, bzw. 5% eines 30% igen Wasserstoffsuperoxyds in keiner Weise geschädigt. Im Gegenteil wies der im Laboratoriumsversuch mit 5% eines 30% igen Wasserstoffsuperoxyds behandelte Hafer höhere Keimprozente und größere Keimgeschwindigkeit auf. Im Freilandversuch auf eine etwa vorhandene Reizwirkung (Stimulation) geprüft, ergaben sich aber keine nennenswerten Mehrerträge bei den mit Wasserstoffsuperoxyd behandelten Parzellen.

Hafer wurde mit 5 % von verschieden konzentrierten Wasserstoffsuperoxydlösungen benetzt und zwei Stunden liegen gelassen. Bei der Ernte ergaben sich pro Parzelle (50 m²) folgende Körnergewichte in Kilogramm:

Alexander of the second of the		Wasser (Kon-			
	30 °/₀	15 %	5 °/°	3 º/a	trolle)
Mittel von 8 (bei Wasserkon- trolle von 18) Parzellen	18,2 ± 0,83	12,6 ± 0,41	11,8 <u>+</u> 0,25	$12,1 \pm 0,50$	12,9 <u>+</u> 0,26

Anders verhielt sich jedoch der Weizen. Bei Verwendung von 3 % eines 30% igen Wasserstoffsuperoxyds zeigte Original Kadolzer Winterweizen im Laboratoriumsversuch starke Keimschädigungen, während

solche bei Wieselburger Kolbenweizen im Freilandversuch nicht bemerkt wurden. Es müßte daher bei Weizen bei Verwendung eines 30%igen Wasserstoffsuperoxyds auch bei Anwendung der niedrigsten Dosis (3%) schon mit der Möglichkeit etwaiger Keimschädigungen gerechnet werden, die nach Sorten verschieden sein können.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß Wasserstoffsuperoxyd als Getreidebeizmittel nicht in Betracht kommt, da selbst mit 30% igem Wasserstoffsuperoxyd bei Anwendung von 3% bei Weizen und Gerste und von 4,bzw. 5% bei Hafer keine befriedigenden Erfolge erzielt wurden. Eine Erhöhung der verwendeten Menge würde aber gleichzeitig eine Erhöhung der Gefahr einer Keimschädigung, namentlich beim Weizen bedeuten, abgesehen davon, daß die an und für sich schon bedeutend (ungefähr 100%) teurere Wasserstoffsuperoxydbeize zu kostspielig werden würde. Ob durch Zusätze die Beizwirkung von Wasserstoffsuperoxyd erhöht werden kann, müßte erst geprüft werden. Wenn jedoch die Zusätze wieder Giftstoffe sein müßten, würde eine solche Beize aber den Vorteil der Ungiftigkeit verlieren.

# Aus der Station für Pflanzenzüchtung und Samenkontrolle in Cluj.

Leiter: Prof. Dr. N. Săulescu.

# Untersuchungen über die physiologische Spezialisierung bei Flugbrand des Weizens *Ustilago tritici* (Pers.) Jens.

Von

### Eugen Rădulescu.

Die Immunitätszüchtung setzt bekanntlich die Kenntnis der physiologischen Spezialisierung des betreffenden Pilzes voraus.

Die Spezialisierungsverhältnisse beim Weizenflugbrand wurden zuerst in Deutschland studiert. Aufbauend auf die Arbeit von Piekenbrock (2) konnte Grevel (1) vier Flugbrandrassen nachweisen, davon drei in deutschen und eine in ausländischen Herkünften. Rudorf und Rosenstiel (4) studierten weiterhin in Südamerika mehrere Flugbrandherkünfte, doch gelang es ihnen nicht, Unterschiede in der Virulenz dieser Herkünfte nachzuweisen. Die Untersuchungen von Rodenhiser (3) können vom Züchter insofern nicht berücksichtigt werden, als man nicht weiß, ob die von ihm auf Kartoffeldextrose nach morphologischen und Farbeneigenschaften isolierten Rassen sich auch bezüglich ihrer Virulenz auf verschiedenen Weizensorten verschieden verhalten.

Die vorliegenden Untersuchungen hatten nun die Frage zu beantworten, ob der Weizenflugbrand in Rumänien sich ebenfalls aus Rassen verschiedener Pathogenität zusammensetzt. Zu diesem Zwecke wurden Herkünfte sowohl von Winterweizen- wie auch von Sommerweizenflugbrand getrennt untersucht.

Als Infektionsmaterial dienten 15 Flugbrandherkünfte aus verschiedenen Teilen Rumäniens — sieben von Winter- und acht von Sommerweizen. Außerdem wurden noch zwei ausländische von Sommerweizen gewonnene Herkünfte geprüft, und zwar eine aus Halle und eine aus Zidlochovice (Tschechoslowakei). Die rumänischen Herkünfte wurden uns in Form von Flugbrand-Ähren eingeschickt, während die ausländischen durch Aussaat von flugbrandhaltigem Weizen gewonnen wurden.

Als Infektionsmethode wurde die von Tiemann (5) und Piekenbrock (2) verwendet. Es wurden mit jeder Herkunft 15 bis 20 Ähren je Sorte infiziert und die geernteten Körner im nächsten Frühjahr flach ausgesät. Bei der Bonitierung wurden auch die nur teilweise befallenen Pflanzen zu den kranken gezählt und aus der Summe der Prozentsatz des Befalls errechnet.

Die Testsortimente wurden willkürlich ausgewählt, da uns die Resistenz der Sorten nicht genügend bekannt war. Als Testsortiment für die Winterweizenherkünfte dienten 5 Sorten verschiedener Abstammung: Kraffts Dickkopf, Vilmorin 27, Blaues Kolben, Alpha Stepka und Turkey.

Das Testsortiment für die Sommerweizenherkünfte setzte sich aus sieben Sorten zusammen, deren Verhalten gegenüber dem Flugbrand uns, zum Teil aus anderen Arbeiten, bekannt war.

Diese waren: 1. Stephany 71, gezüchtet von Dr.W. Stephany (Bod), zur Zeit eine der ertragreichsten Sommerweizensorten in Siebenbürgen, wo sie besonders verbreitet ist. In Cluj war sie bei natürlicher Infektion stark befallen. 2. Rimpaus Roter Schlanstedter, verhielt sich in Halle gegen die von Grevel (1) ermittelten Rassen folgendermaßen: immun oder sehr resistent gegen Rasse 1 und 2; anfällig gegen Rasse 2. Rudorf und Rosenstiel (4) fanden ihn stark anfällig. 3. Saumur de Mars, wenn identisch mit der von Rudorf und Rosenstiel (4) untersuchten Sorte, war in Argentinien immun gegen Flugbrand. 4. Peragis war in Halle (Grevel, 1) immun gegen Rasse 1, anfällig gegen Rasse 2 und 3. 5. Hohenheimer 25 f, zeigte in den Infektionen von Grevel (1) dieselbe Reaktion wie Rimpaus R. Schlanstedter. 6. Vensy, eine tschechische Sorte. 7. Blue Ribbon aus U.S.A. Das Verhalten der letzten beiden Sorten gegen Flugbrand war uns unbekannt.

Außer diesen wurden nebenbei und nur mit einigen Herkünften noch sechs Sommerweizensorten infiziert.

# Ergebnisse.

### Winterweizen.

Die Ergebnisse der Infektionsversuche mit Flugbrandherkünften, die von Winterweizen gewonnen wurden, sind in Tabelle 1 wiedergegeben. Man sieht daraus, daß die Testsorten sich gegenüber den einzelnen Flugbrandherkünften wenig verschieden verhielten. Die Sorte Kraffts Dickkopf zeigte sich gegen alle Herkünfte immun, dagegen waren die Sorten Turkey und Alpha Stepka mittel- bis hochanfällig. Die Sorten Vilmorin 27 und Blaues Kolben waren gegen einzelne Herkünfte immun bis ziemlich resistent. Die Differenzen sind also nicht groß genug, um daraus mit Sicherheit auf das Vorhandensein von physiologischen Rassen beim Weizenflugbrand schließen zu können.

Dieses Ergebnis mit dem Flugbrand des Winterweizens kann auf zweierlei Weise erklärt werden: entweder war das Testsortiment zu klein und die Sorten ungeeignet für den Nachweis dieser Rassen, oder — und das ist wahrscheinlicher — weist der Flugbrand des Winterweizens bei uns keine bedeutenden Unterschiede in der Pathogenität auf. Warum wir zu der letzten Erklärung neigen, werden wir in der Diskussion auseinandersetzen.

Tabelle 1.

		Befall in Prozenten auf Sorte								
Herkunft	Kraffts Dickkopf	Vilmorin 27	Blaues Kolben	Turkey	Alpha Stepka					
Cluj	0,0	0,0	0,0	71,4	30,8					
Geoagiu	0,0	0,0	4,7	34,4	50,0					
Cenad	0,0	5,2	26,0	65,9	71,3					
Segarcea	0,0	0,0	8,0	26,0	71,3 57,1					
Alexandria	0,0	0,0	3,7	67,4	71,0					
Mărculesti	0,0	7,1	0,0	34,8	45,0					
Tighina	0,0	0,0	10,5	70,9	51,6					

Allerdings ist es auch angebracht, die Zahl der Testsorten zu erhöhen, da dadurch die Wahrscheinlichkeit größer wird, daß man die Unterschiede zwischen den einzelnen Herkünften erfaßt.

#### Sommerweizen.

Tabelle 2 enthält die mit Flugbrandherkünften von Sommerweizen erhaltenen Infektionsergebnisse. Diese lassen erkennen, daß die sieben Testsorten ein sehr verschiedenes Verhalten gegenüber den Flugbrandherkünften aufweisen. Sie zeigen also eindeutig das Vorhandensein von Flugbrandrassen bei Sommerweizen in Rumänien.

Wie aus der Tabelle 2 zu ersehen ist, lassen sich die inländischen Herkünfte in bezug auf ihre Pathogenität in drei Gruppen einteilen, die drei Flugbrandrassen entsprechen können:

Rasse 1 zeigte sich in den Herkünften Cluj, Cojocna Câmpia-Turzii, Feldioara und Oradea. Sie befällt sehr stark die Sorten Stephany 71,

Tabelle 2.

	Befall in Prozenten auf Sorte											
Herkunft	Rimpaus Roter Schlanstedter	Hohenheimer 25 f	Stephany 71	Saumur de Mars	Peragis	Vesny	Blue Ribbon	Rümkers Sommer- Dickkopf	Schwarzer Persischer	Ghirca	Quax	Brevit C. I. 3779.
Cluj Cojocna Câmpia-Turzii Feldioara Oradea Cocorozeni Tighina Jassy Zidlochovice (Tschecho-	0,0 0,0 0,0 0,0 0,0 58,0 91,3 0,0		95,0 83,6 0,0 0,0	84,6 54,1 55,6 65,6 23,7 13,6	76,1 46,1 45,4 82,0 80,0 77,2	41,8 63,0 40,5	56,5 81,2 68,0 19,0 10,5	0,0 0,0 —	3,6 10,2 1,5 0,0 - 0,0 0,0	16,6 9,1 58,9	88,3 -14,2	
slowakei)	0,0	0,0 62,5				_	75,0	_	_	_	 92,3	100,0

Saumur de Mars, Peragis, Vesny und Blue Ribbon. Rimpaus Roter Schlanstedter und Hohenheimer 25 f werden garnicht davon befallen.

Rasse 2 wurde in den Herkünften Cocorozeni und Tighina gefühlen; sie befällt mittelmäßig bis stark die Sorten Rimpaus Roter Schlansteller, Peragis und Vesny, schwach die Sorten Hohenheimer 25 f, Saumur de Mars und Blue Ribbon, während die Sorte Stephany 71 immun blieb.

Rasse 3 fand sich in einer einzigen Herkunft (Jassy) und zeichnete sich durch sehr schwache Virulenz aus. Sie konnte keine Sorte aus dem Testsortiment infizieren und vermag nur eine einzige, außerhalb des Testsortiments geprüfte Sorte (Ghirca) sehr schwach zu befallen. Es ist wohl überflüssig zu erwähnen, daß die Keimprüfung der Sporen befriedigend ausgefallen war.

Die zwei ausländischen Herkünfte zeigen ein anderes Verhalten als die oben beschriebenen Rassen. Die Herkunft Halle verhielt sich ähnlich wie Rasse 1 von Grevel. Die Herkunft Zidlochovice (Tschechoslowakei) unterscheidet sich in ihrer Virulenz ebenfalls von den oben erwähnten drei Rassen; sie kann daher als Rasse 4 bezeichnet werden. Sie befällt schwach die Sorte Stephany 71, mittelmäßig bis stark die Sorten Saumur de Mars und Blue Ribbon und garnicht die Sorten Rimpaus Roter Schlanstedter, Hohenheimer 25 f und Peragis.

In unseren Versuchen wurden also vier Rassen ermittelt, und zwar drei aus Rumänien und eine aus der Tschechoslowakei. Von den rumänischen Rassen scheint Rasse 1 am häufigsten zu sein; sie wurde in fünf Herkünften gefunden. Dieser folgt Rasse 2 in zwei Herkünften und schließlich Rasse 1 in einer Herkunft.

Wenn wir nun versuchen, soweit möglich, unsere Ergebnisse mit denen von Grevel zu vergleichen, so kommen wir zu folgenden Schlußfolgerungen: die von uns gefundene Rasse 1 ist in ihrem Verhalten der Rasse 2 von Grevel ähnlich, unsere Rasse 2 ist identisch mit der von ihm gefundenen Rasse 3 und unsere Rasse 3 mit Grevels Rasse 4.

Die von Grevel isolierte Rasse 1, die in Deutschland am häufigsten vorkommt, scheint in Rumänien zu fehlen oder höchstens eine beschränkte Verbreitung zu haben. Auch die von uns in der tschechischen Herkunft gefundene Rasse 4 wurde in den Infektionsversuchen Grevels nicht isoliert.

Von den außerhalb des Testsortiments mit der Mehrzahl der Herkünfte infizierten Sorten fällt die ausgeprägte Resistenz der Sorte Schwarzer Persischer und besonders die Immunität der Sorte Rümkers Sommer-Dickkopf auf. Diese können also als Kreuzungseltern eine Bedeutung haben. Von den Testsorten zeigte die größte Resistenz die Sorte Hohenheimer 25 f, die anfälligsten waren Peragis und Saumur de Mars.

Wenn wir die geographische Verbreitung der Rassen in Betracht ziehen, so bemerken wir, daß alle Siebenbürger Herkünfte annähernd die gleiche Virulenz haben (Rasse 1), während Rasse 2 von den bessarabischen Herkünften stammt. Diese Verteilung steht nicht mit der geographischen Lage in Zusammenhang, sondern beruht auf dem Aufbau bestimmter Sorten, die die Virulenz der Herkünfte bestimmen.

Ein Vergleich der an verschiedenen Instituten gefundenen Pilzrassen kann nur auf Grund eines gemeinsamen Testsortiments durchgeführt werden. Im vorliegenden Fall war der Vergleich unserer Ergebnisse mit denen von Grevel zum Teil insofern berechtigt, als wir in unserem Testsortiment drei von den fünf Testsorten Grevels verwendet haben (Peragis, Rimpaus Roter Schlanstedter, Hohenheimer 25 f).

Jedoch wird es in Zukunft nötig sein, die Testsortimente in allen Untersuchungen aus einer größeren und konstanten Zahl von Sorten zusammenzusetzen. Nur so wird man einen allgemein gültigen Vergleich zwischen den von verschiedenen Forschern isolierten Rassen ziehen und eine Nummerierung vornehmen können, wie sie bei den Rostrassen üblich ist. Dies wird allerdings beim Flugbrand viel schwerer sein, da man es hier nicht mit einzelnen Rassen (genotypisch genommen), sondern mit Populationen d. h. Rassengemischen (Rassengruppen) zu tun hat, die sich in ihrer Zusammensetzung von Jahr zu Jahr je nach der Wirtssorte und somit auch in ihrer Pathogenität verändern können.

### Diskussion.

Wir erwähnten weiter oben, daß die wenig ausgeprägten Unterschiede zwischen den von Winterweizen gewonnenen Flugbrandherkünften einerseits auf die kleine Zahl von Testsorten, andererseits auf die unbedeutenden Differenzen in der Zusammensetzung der Herkünfte zurückzuführen sind.

Nachdem Roemer und seine Schule eindeutig bewiesen haben, daß die Wirtssorte eine selektive Wirkung auf den Flugbrand ausübt, zeigte sich, daß die Flugbrandherkünfte nicht an eine geographische Lage gebunden sind, sondern daß sie von der Wirtssorte abhängig sind. Es kann deshalb der Fall eintreten, daß zwei oder mehrere sehr verschiedene Rassen in einem engbegrenzten Gebiet vorkommen und umgekehrt, daß Rassen mit gleicher Aggressivität räumlich weit von einander entfernt auftreten. Die Wirtssorte bestimmt in hohem Maße die Zusammensetzung und die Virulenz der Flugbrandrassen. Der von uns benutzte Flugbrand wurde nur von solchen Winterweizen gewonnen, die in Rumänien angebaut werden, d. h. von Landsorten oder von solchen Zuchtsorten, die davon abstammen.

Die Flugbrandherkünfte, die von diesen genotypisch wenig verschiedenen Sorten gewonnen wurden, haben annähernd dieselbe Zusammensetzung, und so riefen sie auch auf dem Testsortiment ein wenig differenziertes Befallsbild hervor.

Wenn wir andererseits mit den von Sommerweizen gewonnenen Herkünften so markante Unterschiede finden konnten, so ist das darauf zurückzuführen, daß die in Rumänien angebauten Sommerweizensorten

eine sehr verschiedene Abstammung haben und daß sie verschiedenen Varietäten des rulgare- und durum-Weizens angehören. Diese Sorten haben den Flugbrandherkünften eine bestimmte Rassenzusammensetzung verliehen, so daß deren parasitisches Verhalten sehr verschieden ist.

Wir möchten hier noch auf eine andere Tatsache hinweisen. Es ist auffallend, daß die Rasse, die Grevel in zwei türkischen Herkünften gefunden hat und die von ihm als Rasse 4 und von uns als Rasse 3 bezeichnet wurde, in Rumänien im Osten vorkommt, wo als Sommerweizen - wenn auch nur in beschränktem Maße - Triticum durum angebaut wird. Weiterhin ist ihr parasitisches Verhalten gegenüber dem Testsortiment bezeichnend. Grevel und wir fanden sie so wenig virulent, daß sie infizierten vulgare-Weizen gar nicht oder sehr schwach befällt. Der Weizen, von dem wir diese Rasse gewonnen haben, war ein Triticum durum (Arnäut). Grevel meint auch, und die vorliegenden Untersuchungen bekräftigen diese Annahme, daß diese Rasse sich besonders an durum-Weizen angepaßt hat.

## Zusammenfassung.

Die vorliegenden Untersuchungen, die der Bestimmung von Weizenflugbrandrassen dienten, hatten folgende Ergebnisse:

- 1. Beim Flugbrand des Winterweizens konnten in rumänischen Herkünften physiologische Rassen nicht isoliert werden, was wahrscheinlich auf die genetische Verwandtschaft der in Rumänien angebauten Sorten znrückzuführen ist.
- 2. Der Flugbrand des Sommerweizens zeigt, im Gegensatz dazu, eine ausgeprägte Spezialisierung. Es wurde somit das Vorhandensein von physiologischen Rassen in Rumänien bewiesen.
- 3. Es wurden vier Rassen isoliert, drei Rassen aus den rumänischen Herkünften und eine aus einer ausländischen Herkunft.
- 4. Der Vergleich dieser Rassen mit denen von Grevel in Halle zeigt, daß unsere Rassen 1, 2 und 3 den Rassen 2, 3 und 4 von Grevel entsprechen. Die von Grevel gefundene Rasse 1 ist spezifisch für Deutschland, während die von uns in der tschechischen Herkunft isolierte Rasse 4 von Grevel nicht aufgefunden wurde.
- 5. Die von Grevel ermittelte Rasse 4, die von uns als Rasse 3 identifiziert wurde, zeichnet sich durch sehr geringe Pathogenität aus. Es wird die Annahme Grevels bestätigt, daß sich diese Rasse besonders an durum-Weizen angepaßt hat.

#### Literatur.

- 1 Grevel, K., Phytopathologische Zeitschrift, 2, 1930.
- 2 Piekenbrock, P., Kühn-Archiv, 15, 1927.
- 3 Rodenhiser, H. A., Phytopathology, 16, 1926.
- 4 Rudorf, W. und Rosenstiel, K., Zeitschrift für Züchtung, 19, 1934.
- 5 Tiemann, A., Kühn-Archiv, 9, 1925.

# Institute of Phytopathology, Faculty of Agriculture. Sofia, Bulgaria.

# Mosaic of Stone Fruits.

By

### D. Atanasoff.

With 26 Figures.

#### Introduction.

All stone fruits: almond, apricot, cherry, peach and plum, are subject to a virus disease characterized by mottling of the leaves. The mottling of the leaves usually resembles somewhat that of the numerous mosaic diseases of plants, but here and there on some of the mottled leaves there are to be seen very distinct and more or less typical rings, resembling those of the ring spot virus diseases of herbaceous plants. In most cases this disease affects also, in various ways, the fruits. There have been seen some varieties which, when infected, do not show either the leaf or the fruit symptoms of the disease. Both the leaf and the fruit symptoms vary considerably according to the variety: they vary considerably also in their intensity from year to year. There exists a very close resemblance between the mosaic disease of stone fruits and bitter pit of pome fruits (7, 8), and it seems not improbable that they may be caused by the same or related viruses<sup>1</sup>).

The study of mosaic diseases of woody plants, such as the mosaic disease of stone fruits, which develop the symptoms of the disease slowly and which have a periodic development and can not be grown throughout the year in hothouses, will naturally require much time and considerably more money than the study of most virus diseases of plants. Here are presented in a rather fragmentary way the up-to-date results obtained in the study of the mosaic disease of stone fruits during the last three years.

A heavy drawback in the study of this disease under Bulgarian conditions has been the presence of an unusually large number of varieties of each of the different stone fruits, the large majority of which are not known here under any definite name; or even worse, in some cases, known under different names. Therefore many of the facts and observations reported in this paper can not be connected with any definite variety. Under the present conditions and for some years yet it will be impossible to overcome this difficulty unless new authentic material is imported from

<sup>1)</sup> Christoff (Phytopathologische Zeitschrift 7: 522-536, 1934) reports the successful transmission of a plum virus disease to apple. However since the majority of his cases actually represents effects of winter injury and has nothing to do with viruses this case needs further confirmation.

abroad, which is unthinkable under the present economic conditions. And even then if all experiments and observations were to be repeated with well known varieties, there would be needed many more years and much money which are not available at the moment. In these facts the author sees the justification for publishing the results arrived at up to now in the present form.

The author has been studying this disease on plums during the last eight years. Two years ago, while not aware of its identity with the similar disease of almond, apricot, cherry and peach, he described it under the name "plum pox" (5). Although this name is very descriptive of the plum and cherry disease it is not appropriate for the disease on almond, apricot and peach, the fruits of which do not show, when infected, any pox symptoms; i. e. surface depressions, as do those of cherry and plum: but they show more or less irregularity and bumpiness. On the other hand all stone fruit trees show, when infected with this disease, more or less pronounced mottling of the leaves. Therefore, it seems more appropriate to call the disease "mosaic" instead of "pox", more so, since "pox" symptoms can be seen only on the fruits which are not borne every year. Equally inappropriate would be the name "ring-spot", since ring-spots are not the most common pattern of the leaf mottling in this case.

# Geographic distribution.

Up to this moment the mosaic disease of stone fruits has been observed in California on cherries (19, 21-24); in Minnesota on Prunus triflora and hybrids of Prunus Americana + Prunus triflora (4); in Illinois on plums (4); in Kentucky on plums (2, 4, 29); in Texas on peaches (17, 18); Colorado on peaches (12); England on plums '); Holland on plums and cherries (25); Czechoslovakia on apricots, peaches and plums (9, 11); and Bulgaria on plums (5), almonds, apricots, cherries and peaches (6).

Carne from Australia (14), Dippenaar from South Africa (16), and Sorauer from Germany (27), have described some plum troubles resembling the fruit symptoms of mosaic or plum pox, as it was first called by the author.

# History.

The mosaic disease of stone fruits was described for the first time by J. F. Adams (4), in 1923, under the name "cork spot of plums". Adams cites letters from Anderson (Illinois) and Valeau (Kentucky), describing the fruit symptoms of plum mosaic. Anderson writes: "A number of samples of plums have been received showing a corky area on the upper face. This area extends to the seed and is usually depressed at the surface, sometimes showing convolutions. It was observed in the University orchards

<sup>1)</sup> Correspondence with Mr. S. P. Wiltshire of the Imperial Mycological Institute, Kew, England.

and was confined to two varieties." Valleau describes the same disease under the name "hard flesh spots" as follows: "A disease of plums has been noticed the past season in the Experiment station orchard, especially on the Omaha Plum. It results in depressions on the surface of the fruit which are bluish in color. The flesh under the depression is hard and sunken. This condition extends usually to the pit, although in some other varieties the diseased tissue may be a smaller mass just under the skin. The spot does not seem to spread. When plums which have only a mild

case are cooked, the diseased tissues remain as a hard ball of tissue often attached to the pit". Both of the above descriptions show in a convincing way that the disease observed by Anderson and Valleau is identical with the Bulgarian "plum pox".

Smolák in 1926 reported the occurrence of a mosaic on mirabelle (Prunus) in Czechoslovakia (26).

Rawlins and Horne (22) in 1930 described briefly under the name "Buck skin" the mosaic disease of cherries and showed that it is graft-infectious. A year later they made a more extend report on the same subject (23).

Rietsema in 1930 described and pictured the mosaic of plum and cherry together with some leaf abnormalities as studied by him in Holland (25) and considered it probable that it is caused by a virus.



Fig. 1. Cherry leaf with non-infectious variegations.

Osterwalder also in 1930 described and illustrated a typical and very pronounced cherry leaf variegation (Fig. 1) observed by him in Switzerland (20) on the Rigi cherry. He states that it is widely spread and considered it as an infectious disease. The author has seen so far only one case of the same variegation. All efforts, however, to transmit it by budding gave negative results. Apparently it is not infectious.

In the Forty-third annual report of the Kentucky Agricultural Experiment Station (2), published in 1931, it is stated: "A virus was transferred, by budding, from Japanese plums to peaches where it produced prominent chlorotic line and ring patterns similar in appearance to ringspot of tobacco. Occasionally patterns were found in the leaves of affected plum trees."

In 1930 and 1931 Blattný (10, 11) described in a few words the mosaic of plums as observed by him in Czechoslovakia. Baudyš (9), also in Czechoslovakia, reported in 1931 the occurrence of mosaic on plums, apricots and peaches.

Hutchins (17) in 1932 briefly described as a new disease the mosaic disease of peaches as observed in Texas, and showed that it is graft-infectious. During the same year Valleau (29) published a more detailed description of the leaf symptoms of plum mosaic and showed that it can be transmitted to peach on which it produces chlorotic ring and line patterns. The author (5) also in 1932 described the leaf and fruit symptoms of plum pox or mosaic as studied on a number of different plum varieties in Bulgaria and showed that it can easily be transmitted to healthy plum trees by budding. In his text book on plant diseases published in 1934 (6) he gave a detailed treatment of the same disease and showed

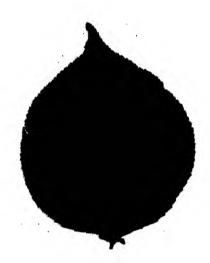


Fig. 2.
Apricot leaf showing mosaic mottling.

that it is identical on the various stone fruits and that it is transmitted by Anuraphis padi Linn. This disease does not occur in the central Balkan region of Bulgaria, which indicates that it is not a native disease.

# Economic Importance.

As is evident from the above the mosaic disease of stone fruits is not yet well understood, and therefore its economic importance and geographical distribution are not fully known. From the very beginning when this disease appeared about 18 years ago for the first time on the native Kustendil plums in western Bulgaria it became evident to every orchardist that it is a very destructive disease which completely ruins the crop.

The experience gained with this disease during the last eight years has only confirmed the author's first impression of its economic importance. It ruined completely the extensive plum culture in south western Bulgaria. This region, which in former years had the plum as its main source of income, is now giving up plum culture and is trying to replace it with that of other kinds of fruit trees. Of course this is largely due to the fact that our native Kustendil plum is the most susceptible variety of plum. However there are a number of foreign varieties, grown all over the world, which are also very susceptible to mosaic; such are: Reine Claude, Queen Victoria, etc. On most cherry varieties the mosaic decreases the crop to less than 50%, which besides is of very inferior quality and usually unfit for the market. The apricot and peach trees infected with mosaic yield irregularly developed, one-sided and bumpy fruits, also of poor quality. On the whole it can be said that the mosaic disease of

stone fruits is the most important of all diseases affecting this group of fruit trees.

## Descriptions.

The symptoms of the mosaic disease of stone fruits vary considerably according to the variety and species of the host plant. On plums, for instance, there are at least four or five distinct types of leaf mottling, depending entirely on the variety. The same is true also of the symptoms on almonds, apricots, cherries and peaches.

### Apricot.

The mosaic disease of apricot in Bulgaria so far has a very limited distribution. It has been seen by the author only in and around the city

of Sofia, the village of Shishkovtzi near Kustendil, and Doupnitza. It has been seen also on apricots in the Sofia market. These apricots, as far as could be established, came from North Bulgaria (Leskovetz). Up to now the author has not seen more than 25-30 naturally infected apricot trees out of many hundreds of healthy trees. Although most apricot varieties seem to be susceptible to mosaic, under natural conditions they get seldom infected with it, as we shall see later.

The most common symptom of apricot mosaic is a hardly perceptible mottling of the leaves (Fig. 2). The leaves are sprinkled with lighter green spots, blotches and occasionally rings. All lighter green areas are not sharply defined but usually run out gradually in the normal areas of the leaf

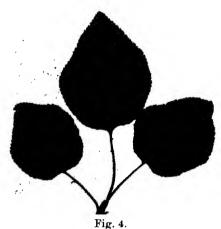


Fig. 3.
Apricot leaf showing mosaic symptoms.

(Fig. 3). Here and there in the lighter green blotches are seen more pronounced chlorotic spots, stripes or rings. Occasionally the light green blotches run along some of the main nerves or they may cover the area on both sides of the nerve, leaving narrow stripes of normal green along the nerves. The light green blotches may be numerous and small (Fig. 4) or on the other hand only two or three on each leaf which in that case are much larger. Only a small percentage of the leaves even of the most severely infected trees show the symptoms of the disease.

A seedling of wild apricot growing in the garden of the Institute of Phytopathology developed during the latter part of the summer typical pronounced mottling on most of its leaves (Fig. 5). Soon afterwards in the light green blotches of the leaves there appeared purple rings which

gradually took on a brown color. Three other apricot trees showed very pronounced symptoms of mosaic. On some of the growing leaves there appeared pronounced yellowish green blotches, often running along



Leaves of wild apricot showing the most common pattern of mosaic mottling.

some of the main nerves. The development of the tissues of the necrotic areas seems to be slower than that of the surrounding normal tissues. This leads to splitting and tearing of the chlorotic parts, so that very soon the leaves with chlorotic blotches take on a ragged appearance (Fig. 6).

Perhaps the most reliable symptoms of apricot mosaic are those seen on the stone of the fruits. Without any exceptions all infected apricot trees show very pronounced white rings and blotches on the stone of their ripe fruits. These white rings and blotches stand out very distinctly

on the brown stones, especially when the latter are wet (Fig. 7).

Not only the stones but the fruits of infected apricot trees also show

definite but not always very pronounced symptoms of mosaic. The first symptoms of the fruit become noticeable at the moment it begins to ripen and to change its color. Such fruits show a mottling and hardly noticeable depressions and elevations on the surface. blotches have a lighter vellowishgreen color than the rest of the fruit and are slightly elevated. In a general way the fruit symptoms resemble somewhat the fruit symptoms of cucumber mosaic, except that in the case of the cucumber mosaic the elevations and bumpiness of the fruits are very prononnced.

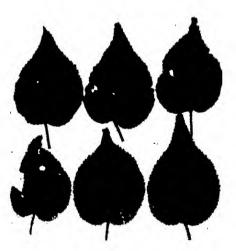


Fig. 5.

Leaves of wild apricot seedling showing mosaic mottling and purple or brown rings.

## Cherry.

So far there have been observed by the author two types of mosaic symptoms on cherry leaves. The one is a mosaic or ring spot type, the other is a streak type. The first is the most common type (Fig. 8). It resembles

somewhat the common mottling of apricots. Here some of the leaves of infected trees are also mottled, but the mottling is different on the numerous leaves of one and the same tree. Some leaves show single or several separate or more or less connected lighter green blotches which resemble groups of clouds on a clear sky. These blotches or spots are not well

defined but their margins disappear gradually in the normal tissues of the leaf. The blotches may be scattered over the whole leaf or over only a portion of the leaf. Other leaves show a more or less general mottling resembling somewhat that of the typical mosaic diseases of herbaceous plants. This mottling also may cover the whole leaf or only a portion of it; for example, one side only or a part of one side. Occasionally on such leaves are seen one or several more or less distinct rings of

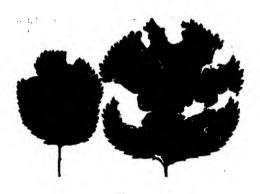


Fig. 6.
Apricot leaves showing mosaic streaks and distortion.

lighter green tissues. Other leaves show a mottling which consists of small or larger rings (Fig. 9). Here the rings consist of several more or less distinct concentric rings. The number of rings in one blotch varies from one to three or more. Usually at the centre of the blotch there is a small brown or white spot not more than one to two mm in diameter: then a ring of normal green tissue follows and finally a ring of light



Fig. 7.

Apricot stones of infected trees showing white rings and blotches.

green. Eventually the central spot of the blotch falls out and the leaf gets perforated and takes on a shot-hole appearance. Here also the mottling may cover the whole leaf or only a portion of it. The variety Early of Lom, besides the above symptoms, shows occasionally heavily spotted and deformed leaves or leaves with a very fine angular mosaic mottling (Fig. 10). The infected trees look almost normal, but their leaves are slightly corrugated or curled.

In all cases all of the above described symptoms of cherry mosaic become apparent first after the leaves reach their full development in late spring and disappear more or less with the coming of the hot summerdays, only to reappear again at the end of August. The day temperature

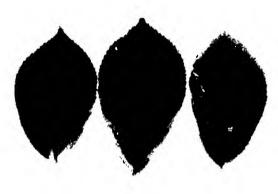


Fig. 8.
Cherry leaves of the variety Early of Lom showing the early summer symptoms of mosaic.

during the latter part of the month of August in Sofia, where the above observations were made, is quite high but the nights are fairly cool and this seems to favour the reappearance of the leaf mottling on the mosaic cherry trees.

The second type of cherry mosaic symptoms is the streak type illustrated by Rawlins and Horne (23). Up to now it has been observed only on one tree of the variety English Morelle standing in front of

the author's house. In this case on single leaves, scattered here and there over the tree, there appear light green or yellowish green streaks one to three centimetres along the central or side nerves of the leaves. On each leaf showing symptoms there is to be seen usually

only one streak, seldom two or three. The tissues covered by the streaks have at first a light yellowish-green color; gradually they take on a light purple color and disappear with the coming of summer, or cause premature falling of the affected leaves. The streaks do not appear again during the fall. The leaf symptoms of cherry mosaic occur every year on the infected tree.

Cherry trees showing leaf symptoms of both types

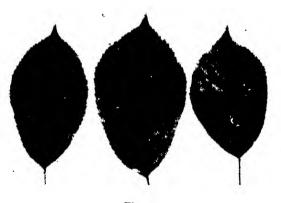


Fig. 9.
Cherry leaves of the variety Early of Lom showing autumn symptoms of mosaic.

show in all cases very pronounced fruit symptoms. In severe cases the first fruit symptoms become apparent two or three weeks after blossoming. At first some of the fruits show one-sided or abnormal bumpy development, they are usually pointed towards the end and show small necrotic spots in their green flesh. The necrotic spots increase and unite to form a net of

brown tissues. The surface of the young fruits becomes somewhat corrugated and uneven. The depressions are small, one to two mm wide and unite to form a more or less uniform rough surface. With the increasing of the necrosis of the flesh, the fruit becomes brown from the tip down and falls prematurely. Other fruits continue to develop quite

normally but soon their flesh becomes necrotic, they too become corrugated, then begin to shrivel and fall. Still other fruits continue to develop normally until they reach their normal size and begin to ripen. At this time watery necrotic spots develop in their flesh. The surface above the necrotic spots sinks in and the fruit gets a more or less nneven or poxed appearance (Fig. 11). Some cherry varieties show numerous but shallow and more or less uniform depressions on the surface. There are, however, varieties which show very deep depressions going down to the stone. In such cases the fruits are severely deformed and worthless (Fig. 12). Some fruits remain normal until the end and do not show any effect of the disease.



Fig. 10.
Cherry leaves showing pronounced chlorotic blotches and destortion on the one leaf and very fine angular mosaic mottling on the other. Both leaves are taken at the same time from a mosaic infected tree.

Their number varies from a few up to 95%. In some years, for instance in 1932—1933, the infected trees had abundant but very severely affected fruits, there being only very few fully normal fruits. In 1934 the same trees had also a heavy crop but almost all fruits were normal and good in quality. Of course to an experienced eye it was very easy to see the slight but still distinct symptoms on the fruits of these infected cherry trees. The presence of the symptoms, however, did not affect noticeably the quality of the fruit during 1934.

#### Peach.

Here also the virus of stone fruit mosaic causes two types of symptoms, according to the variety. Most peach varieties when infected show a very typical and abundant mottling of the older leaves. The leaves at first are normal and do not show any symptoms whatever. Gradually with the aging of the leaves they become sprinkled with more or less numerous light green blotches. The blotches are usually rounded and have no well defined margins (Fig. 13). Here and there some blotches have green centres and so take on the shape of a ring. Where the blotches touch some of the larger veins they extend along them forming a sharp streak.

When the blotches are numerous they are much smaller and unite to form a net-like pattern. In such cases the chlorosis of the leaf may become more or less general and begins to resemble the physiologic chlorosis. Towards the end of the season the light green blotches of the leaves take on a reddish to purple color and become more prominent.

Of the variety known in Bulgaria under the name "Snow White" the older leaves of infected trees show one or several large halo-like round blotches. At first the blotches have a lighter green color; occasi-



Fig. 11.
Fruits of the Early Black ('herry showing symptoms of mosaic.

onally are seen one or two rings of darker green color in them (Fig, 14). Gradually in the halos there appear pink, red or purple rings or fragments of rings, which finally take on a brown color after the death of the affected tissues.

Both types of peach mosaic are very prominent on the younger and vigorously growing trees and become less so in the older trees. Two

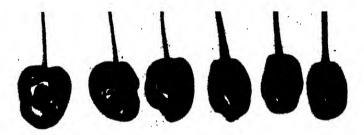


Fig. 12.
Fruits of the White Cherry showing symptoms of mosaic.

trees which in 1933 showed pronounced symptoms, in 1934 showed only very slight ones. In one case the author observed a third type of mosaic on a peach tree. Here from yellow to white lines run through the leaves, forming all kinds of figures and patterns (Fig. 15). Transmitted to other peach varieties this virus did not produce mosaic symptoms as described above. The trees budded with buds from this tree developed symptoms resembling somewhat those of the original tree, not so much by the pattern of the mottling as by the lemon yellow to white color of the blotches.

All peach trees infected with mosaic produce bumpy and irregularly developed fruits, the severity of which varies, however, from season to

season and from tree to tree. Most commonly the fruits of infected trees show more or less pronounced pimples or well rounded blunt elevations resembling somewhat those of cucumber fruits when infected with mosaic (Fig. 16). Such fruits are irregularly developed; usually one side of the fruit remains much behind in its development, while the other half expands abnormally and becomes prematurely colored, forming what in Michigan (15) is known under the name "red suture".

#### Plum.

The symptoms of mosaic on plums vary also very much according to the variety of plums. In all but one case it is characterized by some kind of mottling of the leaves. In one case it is characterized by abnormal development of the leaves. Here will be given a more detailed description of plum mosaic as seen on the native Kustendil plum (Prunus description) because it is the most approachible.

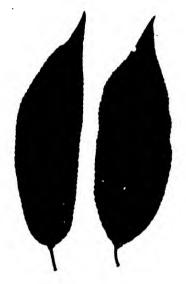


Fig. 13.
Peach leaves of the variety
Holland showing mosaic
symptoms.

domestica) because it is the most susceptible and the most important of our plum varieties. The trees of this variety when infected with mosaic

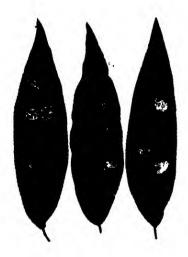


Fig. 14.
Peach leaves of the variety "Snow White" showing mosaic symptoms.

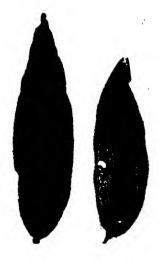


Fig. 15.
Peach leaves showing a very pronounced yellow to white mottling.

have a normal general appearance. This is true even for trees which have been sick for several years. From the opening of the buds in spring until the leaves reach their full size, there is nothing on the latter to

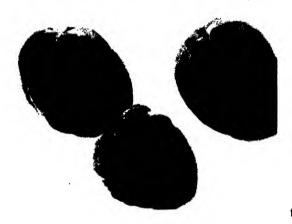


Fig. 16. Fruits from mosaic peach trees showing red suture and bumpiness.

show the presence of the disease. The fully developed leaves become gradually mottled with light green and occasionally vellowish green blotches. In most cases the blotches can be seen well only when the leaves are looked at in the shade, but toward the light (Fig. 17). In the sun and even in strong indirect light the mottling of the le aves becomes less visible. The form of the blotches varies considerably. Often they re-

semble a spot produced by a drop of water which falling on a surface has spread in an irregular way In other cases the blotches have the form of a streak, which usually runs

along some of the main veins and spreads somewhat along the secondary veins (Fig. 18). Occasionally the blotches take on the shape of a ribbon, which curls through the leaf in one or another direction. Not seldom the blotches have the form of rings, with a normal green centre. The ring blotches are very characteristic not only of the plum mosaic but also of the mosaic of almonds, apricots, cherries and peaches and they are alike in all of them excepting those of the cherries, which occasionally show double rings and resemble somewhat those of tobacco ring spot (Fig. 19).

All forms of blotches retain their original light green color until the falling of the leaves. During very hot weather late in the summer, the blotches become masked and less pronounced.

The fruits of the Kustendil plum show very pronounced and characteristic symptoms of mosaic. At first most of the young fruits continue to develop quite normally until they reach their

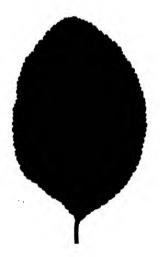


Fig. 17. Plum leaf showing the most common mosaic symptoms.

full size. Up to this moment a superficial examination of the fruits may not discover anything unusual. A careful examination of the truits, however, even at a much earlier stage of development will show the presence of olive green watery spots or blotches under the waxy covering. These spots often have a ring-, arch- or streak- like form. Under these spots the pulp of the fruit is discolored and watery. In the unripe fruits the tissues of the spots have an olive green, in the ripe fruits a rusty brown color and are surrounded by purple tissues. Often the affected ripe fruits do not show any rusty spots but show large blotches and streaks of purple tissues in their flesh, especially around the stones. In the affected tissues cavities filled up with transparent gum

are often present. Some of the so affected



Fig. 18.
Leaf of the Kustendil plum showing mosaic symptoms.



Fig. 19.
Leaf of Kustendil plum showing the ring pattern of mosaic mottling.

fruits begin to drop long before the ripening. With the approaching of the ripening period the affected fruits begin to ripen prematurely, the spots on them first take on the color of the ripe fruits; then they begin to sink, forming depressions and giving the fruits a small-pox face (Fig. 20). The depressions are irregular in shape but occasionally may have ring- or arch-like forms. They are present and usually more abundant at the top end of the fruits.

The affected fruits ripen prematurely, shrivel more or less and fall to the ground. Not all fruits of an infected plum tree begin to show symptoms of the disease at the same time. In most seasons only a negligible number of the fruits on infected trees remain normal until the harvesting of the crop. Occasionally, as was the case in 1934, the infected trees in some localities had a larger percent of normal fruits, but this is the only case during the last eight years.

On the native plum variety known under the name Bardaclia the

mosaic disease produces also mottling of the leaves, but of a different pattern. Here on the leaves appear at first small irregular yellowish green spots which increase in number and size, unite and form large blotches which often cover most of the leaf area. Often the blotches appear between the larger side veins covering one or the other sector of the leaf and leaving unaffected the veins and a small area of the

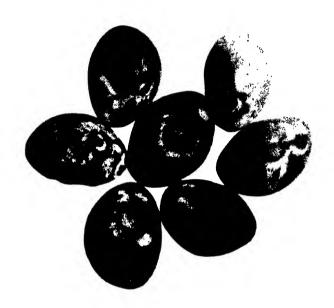


Fig. 20.
Fruits of infected Kustendil plums showing mosaic symptoms.

tissues around them (Fig. 21). In such cases the veins stand out and run through the chlorotic blotch as rivers with their tributaries. In other cases the chlorotic area runs over the larger veins. Here the veins take on a more intense yellow color. Not seldom only the veins become chlorotic, while the areas between them retain their normal green color. On this variety the mottling of the leaves is very pronounced and resembles somewhat the hereditary variegation of some plants. Towards the middle of the summer the central part of the blotches takes on a pink to purple color which soon extends over the whole blotch. Finally the affected tissues die and become brown. Occasionally on some fruits small depressions and necrotic rusty spots are seen in the flesh, but they are never as numerous and as pronounced as those on the fruits of the Kustendil plum and the affected fruits do not fall off. Heavily infected trees have been seen with abundant fruit of high quality.

On a variety resembling the variety Reine Claude the mosaic disease produces a third type of mottling. On the leaves of this variety there

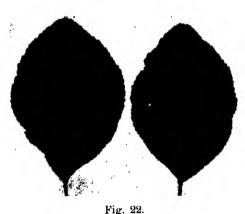
appear first large slightly lighter green blotches which cover much of the leaf area. These blotches can be seen only if looked at in the shade. Gradually the blotches take on a vellowish green and finally a yellow color, while the small ribbons of normal tissues surrounding or standing between the lemon vellow blotches retain their normal green color (Fig. 22) and become slightly raised like blisters, so that the leaves become more or less corrugated and curled. The affected leaves begin to fall off as soon as the blotches become yellow, even as early as July. At the same time the symptoms of the disease become evident also on the fruits. The symptoms of this variety resemble in a general way those of the Kustendil plum (Fig. 23).



Fig. 21.

Leaves of Bardaclia plum showing mosaic symptoms.

A fourth type of symptoms has been observed on a plum variety having large egg-shaped yellow fruits. Here the most characteristic symptom is the abnormal development of the leaves.



Plum leaves of an infected tree of unknown variety showing mosaic symptoms. The dark areas represent normal green tissues.

The periphery of the leaves is very irregular (Fig.24). Usually the leaves are not curled but some parts of them are more expanded than others. The latter seem as if they have been melted away. The less developed portions have a slightly paler green color or show a very slight mosaic mottling. The fruits of this variety show also symptoms resembling those of the Kustendil plum, but are less pronounced.

Finally two plum trees of an imported variety (Monfort?) have been seen which show typical mosaic patterns. Here the lighter green

spots have an angular shape and are surrounded by the leaf veins (Fig 25).

All stone fruit trees infected with mosaic are in a general way normal. If examined carefully and compared with the surrounding healthy trees

of the same age and variety one will note, especially if the trees have been infected many years ago, that their leaves are less numerous, their crowns are less dense and that the number of dead top shoots is larger than on the healthy trees. Infected trees are also more susceptible to winter injury. The decline of infected trees, however, is a slow process and it is too early to say whether the disease leads to the death of the infected trees or not. Degeneration, such as takes place with potato or other plants when infected with mosaic disease, has not been observed as yet on stone fruits.

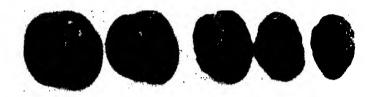


Fig. 23.
Plum fruits showing mosaic symptoms. On the left is one normal fruit.

### Infection experiments.

### By budding.

All infection experiments have been made during the summer months by means of budding. The first infection experiments were made on Kustendil plums early in August 1931. In the following spring both the infected and the control trees developed normal leaves free of mosaic. Two or three weeks later, however, the leaves on the budded branches gradually became mottled and developed typical mosaic symptoms. The mottling of the leaves appears first on the branch into which have been inserted buds from infected trees. Gradually the mottling spreads to the neighbouring branches standing below the point of infection. It usually takes two years for the disease to spread over all the branches of a three years old plum tree. The spreading of the infection goes faster downwards. This is evident from the fact that the first symptoms usually appear on the side branches wich are below the point of budding. The fruits on the branches with mottled leaves also showed symptoms of the disease during the same season; i. e. one year after the budding.

This experiment has been repeated several times and has always given positive results. Slowly growing trees or trees in poor health, when budded with buds from mosaic plums, usually do not show any symptoms of mosaic at the end of the first year. In such cases symptoms are visible only on the shoot coming from the infected bud. During the second and in some cases during the third year, such trees will also show spreading of the mosaic to some of the other branches.

In no case, not even on the most vigorously growing young plum trees in the nursery, did mosaic symptoms appear during the same season in which they were budded with buds from infected trees. In most cases the first symptom of mosaic appears during the following season, usually 9—10 months after the budding.

What has been said above about the infection experiments with plum, applies also to the infection experiments with the other stone fruits which were made during 1932 and 1933.

Up to this moment successful infection experiments have been made in the following combinations:

- 1. Apricot mosaic to plum.
- 2. Cherry mosaic to plum.
- 3. Cherry mosaic to peach.
- 4. Peach mosaic to peach.
- 5. Plum mosaic to cherry.
- 6. Plum mosaic to peach.
- 7. Plum mosaic to plum.

As is evident from the above, the up to date infection experiments have not been made yet in all possible combinations. This was due

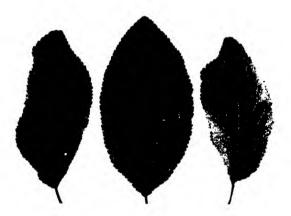


Fig. 24.
Plum leaves showing mosaic symptoms.

to the fact that at that time healthy trees of the corresponding kinds were not available. Infection experiments from plum to apricot have been made several times during the last two years but none of them gave positive results. Nevertheless, the infection experiments, while not yet as extensive as they ought to be, definitely show that the mosaic disease of stone fruits is intertransmissible. By far the largest number of infections have been made on the native Kustendil plum because it is not only the most susceptible variety which shows very pronounced symptoms, but also because it was available in large number. The infection experiments were made for the larger part on nursery stock in the nursery of the Faculty of Agriculture, where the spontaneous occurrence of the disease was less than one percent.

The plum mosaic as described here on the different plum varieties, when transmitted to the Kustendil plum, produces symptoms resembling more or less the symptoms of mosaic as described here on the same variety. Only in one case a mosaic, found on an unknown imported plum variety and characterized by angular mottling of the leaves (Fig. 25), when transmitted to the Kustendil plum, produced first in one branch the angular mottling of the leaves. A few weeks later, however, on the other

branches of the same tree there appeared the typical mosaic symptoms. Gradually the branches, showing angular leaf mottling, developed the mosaic symptoms typical of the variety, while the angular mottling disappeared. A similar case was observed in the orchard of the Vidin Agricultural School for Girls. Here a naturally infected Kustendil plum tree showed on one branch, standing on the west side of its crown, typical angular leaf mottling and on the east side of the crown there was another naturally infected branch, showing the mosaic symptoms common to the variety. These two cases deserve further study, because



Fig. 25.
Plum leaf showing angular leaf mottling.

they suggest that here we may have to deal with two different viruses, one of which, namely that causing angular leaf mottling, is overcome by the other, which causes a disappearance of its symptoms.

Plum mosaic transmitted to cherry produces the mosaic and ringspot pattern of leaf mottling. The same is true also of the two types of cherry mosaic described here, when transmitted to plum.

Plum mosaic when transmitted to peach, produces the typical symptoms of mosaic, as described here on peaches.

No positive results are available as yet from the infection experiments of plum mosaic to apricots; however, all plum trees budded with buds from infected apricot trees developed very typical mosaic symptoms. This shows on the one side the identity of the mosaic disease of apricot with that of plums, on the other hand it suggests that the

healthy apricot varieties, which failed to develop mosaic when budded with buds from infected plum trees, may be resistant to this disease. Some field observations speak also in favor of this supposition.

The cherry mosaic transmitted to peach gives typical symptoms of peach mosaic, but with a tendency to become obscure during the latter part of the summer; while peach mosaic, on the contrary, shows more pronounced symptoms during the latter part of the summer. Cherry mosaic transmitted to plum gives the typical symptoms of plum mosaic as described for the Kustendil plum. In some cases the pattern of mottling is finer, in others coarser than the common type.

Peach mosaic transmitted to various peach varieties (Amsden, Holland and others) gave the same symptoms as were produced on peach when budded by plum mosaic. This shows the identity of the common peach mosaic with the plum mosaic.

The peach is subject to two other types of leaf mottling. The infection experiments with the peach leaf mottling, characterized by a few

but large blotches with ring spots (Fig. 14), did not give results because of severe winter injury to the infected peach trees. The infection experiments with the third type of peach mosaic, characterized by yellow and white mottling of the leaves (Fig. 15), produced Aucuba mosaic like symptoms on peach varieties, which when infected with common mosaic, produce symptoms of the typical mosaic. All this shows that the last type of peach leaf mottling is caused by a different virus, which resembles somewhat that causing the infectious variegation of apples described by Bradford and Joley (13).

### By insects.

The scale insect Lecanium corni was first suspected as the possible carrier of stone fruit mosaic. The origin and spread of plum mosaic in West Bulgaria, which started about eighteen years ago, was preceded by a plague of Lecanium corni. The mosaic disease seemed to follow closely the plague of Lecanium, which started on the Jugoslavian border and advanced gradually eastward. This fact suggested the possibility that Lecanium corni serves as vector of plum mosaic. Therefore the first experiments were made with Lecanium corni. At different times during the months of August and September 1932 branches from mosaic plum trees covered with young larvae of Lecanium corni were taken and deposited on three years old Kustendil plum trees. In a day or two the larvae passed over to the plum trees and were so numerous that the north side of the stems and branches of the trees became covered with the larvae. Lecanium corni was applied to 10 plum trees, but all of them remained free from mosaic until the end of the following summer. Repeated in 1933 this experiment again gave negative results. These results are not considered as final and the experiments will be repeated again also with grown up insects.

The summer of 1933 was characterized by the abundant multiplication and spread of the plum aphid 1) on the young top leaves and shoots of plum trees causing a severe curling and deformation of the same.

During the early part of the same summer the author observed mosaic mottling of the leaves on individual young shoots of two plum trees, which were healthy until the appearance of the aphids. Contrary to the common experience here the mottling appeared on the still young leaves which were immediately below the curled tops of the rapidly growing shoots. This aroused the author's suspicion, because in all cases the mosaic symptoms first appear on the oldest leaves standing at the base of the shoots and gradually spread to the leaves higher up on the shoots, and this after the leaves had reached their full development. In

<sup>1)</sup> Identified as Anuraphis padi by Mr. Laing of the British Museum through the courtesy of Dr. K. M. Smith, to both of whom the author expresses here his thanks.

connection with the above it should be remembered that in all cases the plum leaf aphid causes not only curling but also variegation of the top leaves, which often extends to the normal leaves standing below the curled tops of the shoots. The mottling observed by the author, however, was different from the above variegation and was typical of plum mosaic. All this suggested the possibility that Anuraphis padi may serve as vector for plum mosaic, the much more so since the disease, contrary to all former observations, here spread down from the top leaves of the young and rapidly growing shoots. This was not only a strong evidence that Anuraphis padi serves as vector of plum mosaic, but that in this case the symptoms of plum mosaic became evident not later than 6 to 7 weeks after the appearance of the aphids and the first curling of the top leaves. This is also contrary to the results of the bud transmission of plum mosaic, where the results do not become evident before the next summer.

During July and August 1933 the author transferred a large number of the above aphids from infected plum trees to single shoots of healthy and vigorously growing plum trees of different varieties. The shoots to which the aphids were transferred were inclosed in bags of fine muslin fabric to prevent their spreading. The aphids gathered on the tops of the shoots and soon caused curling of their leaves. No symptom of mosaic, however, appeared before the falling of the leaves. Evidently such can appear the same summer only if the viriferous aphids attack the shoots during the early part of the summer. During the first part of June 1934 there appeared typical mosaic symptoms on all shoots to which aphids had been transferred. The other branches on the same trees had at that time healthy foliage. Later on during the summer the mottling of the leaves spread in some cases from the originally infected shoots to some of the neighbouring healthy branches. This shows that Anuraphis padi serves as a vector of plum mosaic. No such experiments have been made with the mosaic of the other stone fruits, but it seems very probable that this aphid may serve also for the spread of mosaic to other stone fruits, for so far as it feeds on them.

Limited observations tend to show that the various plum varieties as well as the different stone fruits are not equally susceptible to Amaraphis padi. Most susceptible is the Kustendil plum and least susceptible is the apricot. May this not be an explanation of the fact that in the fruit region of West Bulgaria practically all of the many thousands of Kustendil plums are infected with mosaic, while the apricot trees in the same region, standing between infected plum trees, are usually healthy? In the whole region the author has seen up to now only a few mosaic apricot trees, some of which are infected because they have been budded on infected wild plum or top grafted on Kustendil plum stocks. The aphid transmission of apricot mosaic seems, therefore, to be limited if not completely excluded.

In connection with aphid transmission of plum mosaic the following observation deserves to be recorded: In South Bulgaria at two different state nurseries (Aitos and Jambol) most of the limited number of imported plum trees show mosaic symptoms both in the leaves and the fruits, while none of the much larger number of the native Kustendil plum trees shows the presence of the disease. The only explanation which can be given at present for this fact is apparently the absence of a suitable insect vector under the South Bulgarian climatic conditions, which are decidedly different from those of West Bulgaria, where plum mosaic seems to have found ideal conditions for its rapid spreading.

A number of the healthy peach trees in the plant pathological garden of the Faculty of Agriculture became naturally infected during the last few years. This fact shows that the peach mosaic also is insect-transmissible.

### Control measures.

The long experience, gained during the last twenty years in the control of virus diseases of plants and especially with the virus diseases of potato and sugar cane and of peach yellows, etc. in various countries and under widely different conditions, can also be applied to the control of mosaic of stone fruits. Here as in many other cases three different ways of control are possible, namely: 1. Sanitation, 2. Control of insect vectors, and 3. Use of immune varieties.

#### 1. Sanitation.

Orchards and nurseries should be examined from four to six weeks after the development of the foliage. This should be repeated one or two months later and all infected trees should be marked and removed as soon as possible. The inspection of orchards and nurseries and the marking of infected trees should be done while the trees are still rapidly growing and the foliage is still fresh. During the latter part of the summer, the mosaic symptoms become, in some cases at least, masked while in other cases the foliage of some varieties gets injured by mites, jassides, etc., thus completely obscuring the presence of the disease.

Most plum varieties show abundant and pronounced mottling of the leaves and may easily be recognized during the first part of summer. Apricot trees also show distinct symptoms during the early part of summer, but their symptoms soon become more or less masked. Some apricot varieties show pronounced symptoms, but these are seen only on a few of the older leaves and may easily be overlooked. Most peach varieties also show pronounced and abundant symptoms, which become more so during the latter part of the summer. There are, however, peach varieties which show dictinct symptoms during the first part of the summer and only slight or no symptoms during the latter part of the summer. Two peach trees, one of which is in the author's garden, in

1932 and 1933 showed distinct symptoms of mosaic. The same trees did not show any symptoms in 1934. One of these trees only showed slightly paler and somewhat chlorotic foliage.

Cherry trees show distinct symptoms during the early part of the summer. Later on the symptoms disappear, but during the last part of summer, after the return of cooler weather, they become visible again on some cherry varieties.

After discovering the virus nature of stone fruit mosaic, the Bulgarian authorities established a quarantine and prohibited the export of orchard stocks and scions from the heavily infected regions. In the other fruit regions all infected trees were dug out and inspection and destruction of all infected nursery stock was ordered.

Since the easiest way of transmitting stone fruit mosaic is by using infected buds or scions or root stocks for propagation, the use of such should be avoided. Only positively healthy material should be used for propagation.

#### 2. Insect control.

Only the plum aphid (Anuraphis padi) has been established as vector of stone fruit mosaic. Other aphids, jassides, and scale insects may also prove to be vectors. Winter spraying with oil emulsions or carbolineum, supplemented by summer sprays with nicotine or other preparations, will help to decrease the sucking insects and the spread of mosaic.

### 3. Immune varieties.

There is no experimental evidence showing that there are varieties of the various stone fruits which are resistant to mosaic. Some observations made by the author during the last four years, however, deserve to be recorded here because they throw some light on this subject.

1. There have been seen by the author hundreds of infected Kustendil plums growing on wild plum stocks (Prunus cerasifera Ehrh., Prunus divaricata auct. vix Led.), from the bases of which came perfectly healthy shoots. The impression made by this fact was so strong that for years the author was led to believe that the wild plum is immune from the mosaic disease. This was further strengthened by the fact that in the most severely infected localities of West Bulgaria, growing between the infected Kustendil plums, there are thousands of wild plums which never show any symptoms of mosaic and bear regularly an abundant crop. Recently after a more careful study, the author had a chance to prove that at least some varieties of the wild plums growing in Bulgaria do show slight but distinct symptoms of mosaic. Artificially infected wild plum trees, one of which was located in the author's garden, show very indistinct mottling and slight corrugation of the leaves and occasionally typical and pronounced fruit symptoms. The leaf symptoms are visible

only during the first part of summer, while the fruit symptoms are present only on a small number of fruits. The percentage of fruits showing the symptoms of the disease perhaps never reaches one per cent. It is evident from this that the wild plum which is widely spread all over Bulgaria, though not immune is practically resistant to the mosaic disease.

- 2. In the state nursery at Studena near Sofia, there are about ten plum trees, known under the name Deutsche Frühe Zwetsche. These plum trees are surrounded on all sides by a large number of infected Kustendil plum trees, but do not show any symptom of mosaic. author's attention was drawn to this fact by Mr. Kovachevsky, who examined the trees during the summer of 1933 while inspecting the nursery at Studena. During the summer of 1934 the author examined personally the same trees. They were in a very good condition and had very fresh and perfectly healthy foliage and an abundant crop of high quality, almost ready for plucking. Even the most careful examination of the foliage did not discover any mosaic symptoms. A careful examination of the fruits, however, which were in every respect normal and of excellent quality, showed the presence of a hardly noticeable depression or contraction near the epical end of the fruits. Cutting a number of the fruits through the depressions, we saw the presence of very small rusty spots in the flesh of the fruits just below the externally noticeable contraction or depression of the fruits. In this part of the flesh there were occasionally seen small cavities filled up with transparent gum, just as has been described in connection with the Kustendil plum. In the light of these facts the author is inclined to believe that the above plum trees are infected by the mosaic virus just as are all of the numerous Kustendil plums around them, but that they do not show any symptoms because of their resistance to the disease. A number of experiments started during the summer of 1934 in due time will throw more light on this subject.
- 3. As already mentioned above, among the infected Kustendil plums there are often growing in West Bulgaria numerous apricot trees of various varieties, but they are usually free from mosaic. This may be due in part to the fact that apricots are not as much subject to aphids and other sucking insects as is the Kustendil plum, and that for this reason they remain healthy. Another fact, however, makes us believe that at least some apricot varieties not only escape mosaic but must be resistant to it. In support of this is the following observation: In the village of Shishkovtsi, near Kustendil, one orchardist seeing that his Kustendil plum trees are no more profitable because of the mosaic disease, top-grafted 20 plum trees in 1924 with different apricot varieties. The top-grafted plum trees are surrounded on three sides by Kustendil plums, all of which without any exception are infected with mosaic. The author visited the orchard in 1933 and 1934 at the moment the fruits were

getting ready for picking. Out of 20 top-grafted trees only three showed mosaic symptoms on the leaves and the fruits, while the others were perfectly normal. One of the normal apricot trees had a plum shoot formed on one of the top-grafted branches. This plum shoot showed typical but slight mosaic symptoms (somewhat finer, less numerous and less pronounced mottling), while the four large apricot branches on the same tree were free of any mosaic symptoms and were covered with abundant and fresh dark green foliage. These facts are susceptible to various interpretations. This question can be elucidated satisfactorily,

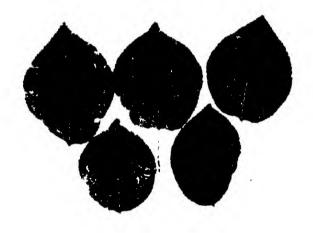


Fig. 26.
Leaves of Prunus mahaleb showing mosaic symptoms.

however, only experimentally. The author does not wish, therefore, now to go further than to place on record this interesting observation. In connection with the above, another fact deserves to be mentioned: All efforts to transmit plum or apricot mosaic to healthy apricot nursery stocks so far have given no positive results. This may be due to the slow growing of the infected (budded) trees which had to be transplanted, or to some other unknown reason. However, when one considers that all of the author's infection experiments have given almost invariably only positive results, the numerous negative results with apricot deserve special interest.

Rawlins and Parker (24) report that according to their observations "it appears that the Mahaleb root in some way causes a tree to resist or escape natural infection, while trees on Morello (*Prunus cerasus*) stock are very susceptible to the disease."

The Mahaleb (Prunus mahaleb) when young and rapidly growing has been seen by the author with pronounced mosaic symptoms (Fig. 26).

4. Finally the fact mentioned elsewhere in this paper deserves to be pointed out once more that the native plum variety, known under the name Bardaclia, produces almost annually an abundant crop of good fruits in spite of the fact that it shows very pronounced leaf symptoms of mosaic.

In the light of the facts described above, it seems highly probable that it will be possible to find or breed varieties of the various stone fruits which will be able to bear abundant fruit of good quality even when infected with mosaic.

#### Summary.

All stone fruits: almond, apricot, cherry and plum are subject to a virus disease characterized by mottling of the leaves. Here and there on some of the leaves of infected trees very distinct rings, resembling those of the ring-spot virus diseases of herbaceous plants, are also to be seen. There is a very close resemblance between the mosaic disease of stone fruits and bitter pit of pome fruits.

On most varieties the disease affects also, in various ways, the fruits. The flesh of most plum and cherry fruits becomes necrotic and the fruits themselves get a poxed appearance, ripen prematurely and fall off. The fruits of infected almond, apricot and peach trees are irregularly developed and bumpy. Infected trees never recover and are worthless.

So far the disease has been observed in Bulgaria, Czechoslovakia, Holland, England and the United States.

The mosaic disease of the various stone fruits is intertransmissible and easily can be communicated from diseased to healthy trees by budding. Under natural conditions it is spread by the plum aphid (Anuraphis padi).

Some wild and cultivated plum varieties when infected continue to give normal crops of high quality.

As control measures are recommended: 1. Removal of the infected trees, 2. Use of healthy scions and stocks for propagation, and 3. Control of sucking insects.

#### Literature.

- 1 Anonymous. Bureau of Agricultural Industry. Fourth Bienn. Rept. Mich. Dept. Agr. for the fiscal years ending June 30, 1929 and 1930: 19-57, 14 figs., 1931. (Red suture of peach).
- 2 Anonymous. Fourty third annual report of the Kentucky Agr. Exp. Stat. for the year 1930: 21-24, 1931.
- 3 Anonymous. Fourty-fourth Report of the Kentucky Agr. Exp. Stat. for the year 1931. Part 1: 1-66, 1932.
- 4 Adams, J. E. Diseases of fruit and nut crops in the United States in 1922. Plant Disease Bul. Supp. 28: 350-351, 1923.
- 5 Atanasoff, D. Plum pox: a new virus disease. Yearbook Univ. Sofia, Faculty of Agr. 11: 49-70, 6 figs., 1932/1933.

- 6 Atanasoff, D. Diseases of Cultivated Plants. University of Sofia, Publication N 137: 124-143, 1934. (Bulgarian.)
- 7 Atanasoff, D. Is bitter pit of apples a virus disease? Phytopathologische Zeitschrift 7 (2): 145-168, 9 figs., 1984.
- 8 Atanasoff, D. Bitter pit of pome fruits is a virus disease. Yearbook of the Univ. of Sofia, Faculty of Agr. 13: 1—8, 1934/35.
- 9 Baudyš, E. Fytopathologické posnámky. VII. Ochrana Rostlin 11 (6): 178—197, 9 figs, 1931.
- 10 Blattný, C. Posnámky o virovych přibuzných chorobách rostlin. 1. Ochrana Rostlin 10 (4-5): 130-138, 3 figs, 1930.
- 11 Blattný, C. Virové chorobý. Ochrana Rostlin 11 (3-4): 138, 1931.
- 12 Bodine, E. W. Occurrence of peach mosaic in Colorado. Plant Disease Reporter 18 (10): 123, 1934.
- 13 Bradford, J. C. and Joley, L. Infectious variegation in the apple. Journ. Agr. Res. 46 (10): 901-908, illus., 1933.
- 14 Carne, W. M. Crinkle of Japanese plums. Journ. Dept. Agr. W. Australia 2 Ser. 3 (2): 175, 1 fig., 1926.
- 15 Cation, D. Three virus diseases of the peach in Michigan. Mich. Agr. Exp. Stat. Cir. Bul. 146: 1-11, 2 figs., 1932.
- 16 Dippenaar, B. J. Fruits spots of the Kelsey and other plum varieties. Farming in S. Africa 6 (72): 525 526, 3 figs., 1932.
- 17 Hutchins, L. M. Peach mosaic. A new virus disease. Science N. S. 76 (1962): 123, 1932.
- 18 Hutchins, L. M. Peach mosaic. Phytopath. 23 (1): 17, 1933.
- 19 Kinman, C. F. A study of some unproductive cherry trees in California. Journ. Agr. Res. 41 (4): 327-355, 6 figs., 1930.
- 20 Osterwalder, A. Panaschierte Kirschblätter oder die sogenannte Rigikirschkrankheit. Schweiz. Zeitschr. f. Obst- und Weinbau, 39: 478-483, 3 Abb., 1930.
- 21 Philip, G. L. Cherry culture in California. California Agr. Extens. Serv. Circ. 46: 1-42, 17 figs., 1930.
- 22 Rawlins, T. E. and Horne, W. T. A graft infection disease of the cherry. Phytopath. 20 (10): 853, 1930.
- 23 Rawlins, T. E. and Horne, W. T. Buckskin, a destructive graft infectious disease of the cherry. Phytopath. 21 (3): 331-335, 2 figs., 1931.
- 24 Rawlins, T. E. and Parker, K. G. Influence of rootstocks on the susceptibility of sweet cherry to the Buckskin disease. Phytopathology 24: 1029-1031, 1934.
- 25 Rietsema, J. Weinig bekende ziekten in kers, pruim en perzik. Tijdschr. Plantenz. 36 (11): 261-269, 4 pl, 1930.
- 26 Smolák, J. Stužba informacni. Druhá výročny zpráva stan pro choroby rostlin na Mělnice za rok 1925—26: 90—95, 4 figs., 1926.
- 27 Sorauer, P. Bittere Pflaumen. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten 21: 145 146, 1911.
- 28 Stevanescu, D. J. Observationi asupra degenerarii prumului. D'Agen. Bul. Agr. (Bucaresti) 4: 87—111, 13 figs., 1922.
- 29 Valleau, W. D. A virus disease of plum and peach. Kentucky Agr. Exp. Stat. Bul. 327: 89-103, 9 figs., 1932.

# Mosaikfleckigkeit, Chlorose und Stippenfleckigkeit bei Äpfeln, Birnen und Quitten.

Von

#### Alexander Christoff.

Mit 12 Textabbildungen.

### Einleitung.

In der Arbeit über die Virus-Chlorose bei Äpfeln wurde hervorgehoben. daß die Kulturarten der Familie Rosaceae Virus-Erkrankungen unterworfen sind, wobei sie Mosaikfleckigkeit und bei manchen Arten auch Chlorose der Blätter (Gelbsucht) aufweisen, indem im letzten Falle diese Symptome einzeln oder zusammen auftreten. In derselben Arbeit wurde auch über die Möglichkeit gesprochen, daß die Krankheit, als Stippen (= Bitter pit) bekannt, bei Äpfeln eine Phase der beschriebenen Virus-Erkrankung in derselben Art darstellt. Die Frage, ob es sich bei dieser Familie um eine oder mehrere Virusarten handelt, wurde weiteren Forschungen überlassen. Jedoch infolge der verhältnismäßig großen Anzahl von Wirtspflanzen, sowie auch wegen des Variierens der Symptome, das nicht nur von der Art, sondern auch von der Sorte abhängt, von welcher das Virus genommen und auf welche es übertragen wird, wird die Arbeit bezüglich der Identifizierung erschwert und wird erst während der kommenden Jahre, beim Vorgehen mit entsprechendem gleichartigen Material, möglich sein. Trotzdem konnte man bei den bisherigen Versuchen feststellen, daß die Mosaikkrankheiten von Birne, Quitte, Pflaume, Kirsche, Pfirsich, Aprikose, Weichsel, Mandel, Zwetsche und Haidenrose auf Äpfel übertragen werden. Bei dieser Tatsache, sowie auch in Anbetracht anderer gekreuzter Ansteckungen unter den erwähnten Arten, ist es sehr wahrscheinlich, daß ein allgemeiner Virus bei der erwähnten Familie vorhanden ist.

In den Untersuchungen der Virus-Krankheiten bei den Arten der Familie Rosaccae tritt nicht nur die große Identität der Symptome hervor, sondern auch der gleiche Verlauf der Krankheit bei Apfel, Birne und Quitte, ein Umstand, welcher besonders bei den jungen Bäumchen sehr auffallend ist. Die Verschiedenheiten, wenn überhaupt solche erwähnt werden können, beziehen sich nur auf die Erscheinungen der Krankheit bei den älteren Bäumen und dies nicht in allen Fällen. Das wird aus den nachstehenden Beschreibungen der Krankheit bei den erwähnten drei Obstarten festgestellt werden.

## Entwicklung der Krankheit beim Apfel.

Sowohl die Symptome als auch der Verlauf der Krankheit wurden in unserer Arbeit "Mosaikkrankheit oder Virus-Chlorose bei Äpfeln" (3) ein-

gehend untersucht, wobei die Frage der Krankheitserscheinungen an den Früchten ungelöst blieb, da die Untersuchungen in dieser Richtung noch nicht beendet waren.

Wie in der oben erwähnten Arbeit mitgeteilt, wurde beim Untersuchen der dreijährigen okulierten Apfelbäumchen in der Staats-Obstbaumschule bei Tscherwena woda (Bezirk Russe, Bulgarien), im Monat Mai d. J. festgestellt, daß bei denjenigen, welche ein gänzlich normales

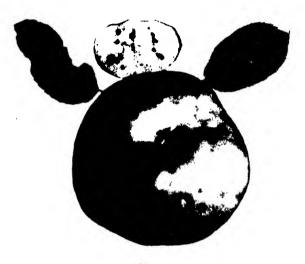


Abb. 1.

Stippen (= Bitter pit) an der Frucht, Mosaikflecken und Deformierung der Blätter am Apfel der Sorte "Schöner Josephinaapfel" im Obstgarten von Obrastzow-tschiflik.

Aussehen hatten, einige Blätter Mosaikfleckigkeit aufwiesen. Eine derartige Fleckigkeit wurde bei folgenden Sorten festgestellt: "Stanimaschka Aivania", "Kitschowka", "Winter Goldparmäne", "Baumanns Reinette" und "Gelber Bellefleur". In den Reihen der erwähnten Sorten waren zwischen den äußerlich normalen Bäumchen auch solche, welche Symptome der Virus-Chlorose aufwiesen. Diese Art Krankheit wurde außer bei den oben erwähnten Sorten bei auch den Sorten

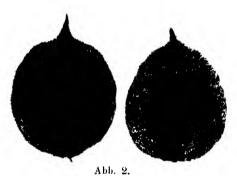
"Momitzi", "Große Kasseler Reinette", "Kokradjanka" und "Champagner Reinette" beobachtet. Während derselben Zeit wurde beim Untersuchen der fruchttragenden, dreißigjährigen Apfelgärten in Obrastzow-tschiflik Blätterfleckigkeit bei den Sorten "Große Kasseler Reinette", "Graue französische Reinette", "Winter Zitronenapfel" und "Schöner Josephinaapfel" gefunden. Bei anderen Sorten wie "Ben Davis" und "Champagner Reinette" wurde nur eine schwache Deformierung bei einigen Blättern gefunden. Bei weiteren Beobachtungen dieser Bäume wurde folgendes festgestellt:

- 1. Bei allen Sorten trat ein massenhaftes Abfallen der Früchte bis zu deren Reife auf.
- 2. Bei der Sorte "Graue französische Reinette" wurde während der Blütezeit, sowohl im vorigen als auch in diesem Jahre, das Deformieren der Blumenkrone bei den Blüten einiger Zweige beobachtet, was den Symptomen der von der Mosaikkrankheit angesteckten Haidenrose (Rosa gallica L.) glich.
- 3. Bei der Sorte "Große Kasseler Reinette" und "Winter Zitronenapfel" wurde eine schwache Deformierung der Früchte beobachtet.

- 4. Bei der Sorte "Winter Zitronenapfel" wurden außer der schwachen Deformierung der Früchte einzelne Früchte mit typischen Symptomen der Stippenflecke gefunden.
- 5. Beim "Schönen Josephinaapfel" wiesen alle Früchte in der Reifezeit Symptome von Stippenflecken auf und sind vorzeitig abgefallen (Abb. 1).

Um den Zusammenhang zwischen den Stippenflecken und der Mosaikfleckigkeit der Blätter zu beweisen, wurden künstliche Ansteckungen mit Knospen des "Schönen Josephinaapfels" auf vier zweijährigen Apfelwildlingen und auf einem einjährigen Zwetschenwildling, welche im Garten der Phytopathologischen Abteilung wuchsen, vorgenommen. Das Ergebnis dieser Okulierungen waren Mosaikflecken auf den Pflaumenblättern nach 9 Tagen und bei den Apfelbäumchen nach 27 Tagen.

Später, als die Anzeichen der Stippen auf den Früchten der Sorte "Schöner Josephinaapfel" erschienen, wurde Saft von einer Frucht entnommen, welcher auf einen sich stark entwickelnden Trieb eines dreijährigen Bäumchens der Sorte "Winter Goldparmäne" übertragen wurde (Standort: Garten der Phytopathologischen Abteilung). Dies geschah mit Hilfe eines am unteren Ende ausgezogenen Röhrchens, das von der Triebspitze bis zur Basis des dritten Blattes von oben ein-



Mosaikflecken an Birnbaumblättern der Sorte "Williams Christbirne" in der Staats-Obstbaumschule bei Tscherwena woda.

geführt wurde. Nach zehn Tagen wurden Mosaikflecken auf der Blattspreite des erwähnten Blattes sichtbar, und später kamen sowohl an den unteren, als auch an den oberen Blättern Mosaikflecken zum Vorschein.

Die Ergebnisse der künstlich vorgenommenen Ansteckungen weisen sehr klar darauf hin, daß die unter dem Namen Stippenflecken bekannte Krankheit eine Art Mosaikkrankheit und Virus-Chlorose darstellt.

## Entwicklung der Krankheit bei der Birne.

Wie bei der Arbeit über die Mosaikkrankheit des Apfels erwähnt, wurde eine Krankheit mit ähnlichen Symptomen auch an den Birnbäumchen der Staats-Baumschule bei Pawlowo, in der Nähe von Sofia, noch während des Jahres 1930 beobachtet. Bei den Sorten "Enisseika", "Hardiever Butterbirne", "Pastorenbirne", "Jiffarder Butterbirne", "Winter Dekansbirne", "Diel's Butterbirne" und "Hardenponter Butterbirne" wurde eine Verzögerung im Wuchs einer großen Anzahl von Bäumen bemerkt, sowie auch ein Erblassen und teilweises Einrollen der Blattspreite, ferner braune Brennflecken am Rande der Blattspreite, und die Blätter des ganzen Baumes

trockneten ein. Bei diesen Erscheinungen wurde auch noch ein Faulen der Baumwurzeln, so wie es bei den Apfelbäumchen bemerkt wurde, beobachtet.

Am 24. Juli 1933 wurden Mosaikflecken an den Blättern der einjährigen okulierten Birnbäume der Sorten "Edra Kasna" und "Enisseika Ranna" in der Baumschule von Marin Atanasow Natschew in Diwdedowo (Bezirk Schumen), beobachtet. Auf den Blättern der erwähnten Sorten erschienen mosaikartig zerstreut, etwas blassergrüne, polygonale Flecken bei auffallender Härte und Sprödigkeit der Blattspreite. Solche Symptome wurden zum ersten Mal in der Staats-Obstbaumschule bei Pawlowo schon während des Jahres 1931 beobachtet. Im Jahre 1933 wurde diese Krankheit auch in der Staatlichen Baumschule in Russe (am 15. Juli) und in der Privat-Baumschule von Gertscho Stojanow in Kjulewtscha, Kreis Schumen, (am 24. Juli) gefunden.

Im Jahre 1934 wurden die Birnbäume in der Staats-Baumschule bei Tscherwena woda untersucht. Bei dieser Untersuchung konnte die Krankheit



Abb. 3. Stippen an der Birnfrucht einer unbekannten Sorte.

weder im Saatbeet, noch unter den in diesem Jahre versetzten Bäumchen festgestellt werden. Jedoch begegnete man der Krankheit massenhaft bei denjenigen verpflanzten Bäumchen, welche im vorherigen Jahre auf Knospen okuliert wurden. In diesem Falle wurde festgestellt, daß sowohl die Triebe der okulierten Bäumchen, als auch die Triebe der Birnwildlinge, bei welchen die okulierten Knospen verwelkt waren, Blätter mit ausgeprägter Mosaikfleckigkeit hatten. Beim Untersuchen der zwei- bis dreijährigen okulierten Birnbäumchen wurde eine Fleckigkeit der Blätter bei allen Bäumchen der Sorten: "Gute Luise von Avranches", "Pastorenbirne", "Enisseika", "Williams Christbirne" (siehe Abb. 2), "Beilerdie" und teilweise auf der "Hardenponter Butterbirne" bemerkt.

Die Mosaikkrankheit des Birnbaumes ist durch eine Buntheit der Blattspreite bezeichnend, obwohl der Unterschied der Farbe zwischen den normalen und blassen Flecken nicht sehr groß ist. Sie wird bei auffallendem Licht an der Oberseite des Blattes bemerkbar, kommt jedoch in durchfallendem Licht noch mehr zum Vorschein, wobei man bemerkt, daß die Blattspreiten mit mosaikartig zerstreuten, dunklen und hellen, polygonalen Flecken besät sind (siehe Abb. 2). Solche Flecken sind an allen Blättern der Bäumchen sichtbar, mit Ausnahme der jüngsten und der sich noch entwickelnden Blätter.

Bei den fruchttragenden Bäumen ist die Chlorose in vielen Fällen das einzige Zeichen der Krankheit, die in Zusammenhang mit den klimatischen und Bodenverhältnissen, sowie auch mit der Sorte, sehwächer oder

stärker ausgeprägt ist. Im letzten Falle verursacht sie nicht nur ein völliges Verbleichen der Blätter, sondern auch deren vorzeitiges Abfallen, bereits gegen Ende des Sommers. Unsere Beobachtungen an den künstlich

angesteckten Birnbäumchen geben Anlaß zur Annahme, daß die VirusErkrankung der Bäume auch eine Grundursache der massenhaften Verbrennungen auf den Birnblättern ist, die in gewissen Jahren, besonders in Süd-Bulgarien beobachtet werden.

Die Symptome auf den Früchten der an Virus erkrankten Bäume sind ziemlich charakteristisch, obwohl sie nicht regelmäßig jedes Jahr im gleichen Ausmaße erscheinen. Besonders typisch ist das Abfallen der jungen Fruchtknoten sofort nach dem Verblühen bis zum In diesem Falle erscheinen Schließen der Kelche. zwischen dem Stiel und dem fleischigen Teil der Frucht undeutlich begrenzte, anfänglich bleiche und später allmählich intensivere schmutzig-braune Flecken, welche beim Wachsen der Früchte dunkelbraun bis schwärzlich-braun werden. Diese Flecken sind oberflächlich und umfangen nur die Schale. Alle fleckigen Früchte bleiben in ihrer Entwicklung zurück und fallen ab, während



Abb. 4. Mosaikflecken und Verbrennen der Blätter an einem Birnbaumwildling, nach künstlicher Ansteckung durch Okulieren mit Knospen eines chlorotischen Baumes (von Abb. 3).



Abb. 5. der Blätter bei Befall einem Birnbaumwildling mit Kreisen und Flecken nach der Okulierung mit Knospen der Sorte "Williams Christbirne", welche Mosaikkrankheit weist (siehe Abb. 2).

die nicht fleckigen sich weiter normal entwickeln. Solch ein Abfallen der Fruchtknoten tritt alljährlich in größerem oder geringerem Ausmaße bei den infizierten Bäumen auf. Gegen Ende Mai 1931 wurde diese Art Krankheit zum ersten Male in Sofia festgestellt, und kranke Früchte wurden uns von Pleven (von den Sorten "Andenken an den Kongreß" und "Wodnitza"), von Panagjurischte (von der Sorte "Pastorenbirne"), von Plowdiw, Tatar-Pazardjik, Trojan und vom Dorfe Roman (Bezirk Wratza) gesandt.

> An diesen Früchten, welche an den Ästen der infizierten Bäume bleiben und sich entwickeln. der Reifezeit eine Fleckigkeit wird während beobachtet. In diesem Fall sind dunkler-grüne Flecken, zerstreut oder ineinandergehend sichtbar. welche an der einen Seite der Frucht am häufigsten erscheinen. In einigen Fällen sind diese Flecken oberflächlich, bei anderen bilden sie Vertiefungen. wodurch die Oberfläche der Frucht genarbt wird (siehe Abb. 3).

Die Tatsachen, welche mir Anlaß geben anzunehmen, daß die Chlorose und die Mosaikflecken der Blätter und anderseits das Abfallen der Fruchtknoten und Deformieren der Früchte (was eine Art Stippenflecke darstellt) Symptome ein und derselben Krankheit sind, sind aus folgender Feststellung ersichtlich:

Im Frühling 1934 wurde ein starkes Abfallen der kleinen Früchte bei zwei Birnbäumen einer unbestimmten Sorte, sowie auch an einem Baume der Sorte "Herzogin von Angulême" in der Landwirtschaft des Agronomen Stamboliew, in der Nachbarschaft von Obrastzow-tschiflik, festgestellt. Später, im Sommer, wiesen die Bäume die Symptome einer verhältnis-



Abb. 6. Gelbe und blaßgrüne Mosaikflecken und verschiedene Deformierungen der Blätter bei der Virus-Infektion des Quittenbaumes.

starken Chlorose auf. welche mit Verbrennungen anftrat. Während der Baum der Sorte "Herzogin von Angulême" ohne Früchte blieb, behielten die übrigen beiden Bäume einen Teil der Früchte, jedoch traten an letzteren in der Reifezeit Stippen auf. Als man von den kranken Bäumen Pfropfreiser nahm und Knospen davon auf einen zweijährigen Apfelwildling und zweijährigen Birnwildling okulierte, erhielt man beim Birnbäumchen gegen den 10. Tag und beim Apfelbäumchen gegen den 30. Tag Mosaikflecken. Beim Birnwildling erschienen auf den einzelnen Blättern der infizierten Triebe mittelgroße, polygonale, blaßgrüne Flecken, welche in der Farbe bis zu zitronengelb variierten. Nach diesen Flecken, welche sich am Rande der Blätter bildeten, trat auch ein Nekrotisieren des Gewebes auf, weswegen die Blattspreite an dieser Stelle eine

dunkelbraune bis schokoladebraune Farbe aufwies, indem sie vom normalen grünen Gewebe durch einen verhältnismäßig engen Kranz von blaßgrünen bis zitronengelben Geweben abgesondert war (siehe Abb. 4). Beim Apfelbaumschößling erhielt man anfänglich eine Mosaikfleckigkeit der obersten Blätter, welche später ausgeprägter wurde, indem gleichzeitig chlorotische. polygonale Flecken auch an den alten Blättern auftraten.

Um nachzuprüfen, ob die mosaikartige Buntheit auf den Blättern der Birnbäumchen der Staats-Baumschule bei Tscherwena woda einer



Abb. 7. Deformierungen der Blätter und der Blüte bei mit Virus angesteckten Quittenbäumen.

Virus-Krankheit zuzuschreiben ist, wurden künstliche Ansteckungen bereits gegen Ende Mai dieses Jahres vorgenommen, indem für diesen Zweck Pfropfreiser von der Sorte "Williams Christbirne" genommen wurden, deren Blätter Mosaikflecken aufwiesen. Mit Knospen dieser Pfropfreiser wurden drei Apfel- und ein Birnbaum, zweijährige Wildlinge, angesteckt. Als Ergebnis dieser Übertragung wurden auf den Blättern an zwei der Apfelbäumchen blaßgrüne, mosaikartig zerstreute Flecken nach ungefähr zweimonatiger Inkubationszeit festgestellt. An dem Birnbaumschößling wurden undeutliche Flecke der Blattspreiten nach ungefähr eineinhalb Monaten bemerkt, und nach Ablauf von zweieinhalb Monaten wurden mosaikartige, blaßgrüne Flecken und Kreise sichtbar, welche einen Durchmesser von 8 mm erreichten (siehe Abb. 5). Im letzten Falle glichen diese Symptome denjenigen, welche beim Übertragen der Mosaikkrankheit von der Haidenrose auf den Birnbaum erzielt wurden.

Beim Durchsehen der phytopathologischen Literatur bemerkt man, daß unter den Obstbäumen die Birne am zugänglichsten für die Chlorose ist. Vielfache Untersuchungen sind in Zusammenhang mit dieser Erkrankung vorgenommen worden. Zahlreiche Autoren schrieben nämlich diesen Zustand einem Mangel an Eisen zu und haben verschiedene Methoden zur Heilung dieser Bäume empfohlen, am häufigsten die Verabreichung verschiedener, meistens eisenhaltiger Verbindungen. Diese Stoffe wurden entweder unmittelbar in die Stengel oder die Hauptwurzeln eingeführt oder aber dem Boden zugegeben (z. B. 4, 8). Die Ergebnisse solcher Behandlungen waren jedoch sehr wechselnd. Die Erforschungen von Milad (5) aber zeigen, daß das Eisen von den Chlorose-Bäumen gut aufgenommen wird und daß es in ihren Geweben nicht fehlt. Aus diesem Grunde zicht er die Schlußfolgerung, daß unter gewissen Umständen dieses Element in der Pflanze ohne Wirkung bleibt. Aus den bisherigen Darlegungen geht schon hervor, daß nicht der Mangel an Eisen, sondern das Vorhandensein des Virus in den Geweben der Pflanze, wenn nicht die einzige, so doch eine der Anfangsursachen der Chlorose ist.

#### Entwicklung der Krankheit bei der Quitte.

Die Entwicklung der Krankheit bei den einjährigen okulierten Bäumchen ist vollkommen identisch mit derjenigen beim Apfel und bei

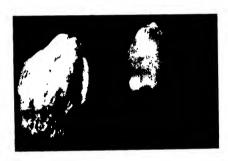


Abb. 8.
Links: Deformierungen, vorzeitiges Reifen
und Stippen an einer Quittenfrucht.
Rechts: Scheinbar gesunde Frucht, welche
beim Aufbewahren mit Rostflecken bedeckt wird.

der Birne. Der Trieb, welcher sich aus der okulierten Knospe entwickelt, gibt anfänglich gewöhnlich an Farbe und Form normale Blätter. Jedoch befinden sich an manchen dieser Blätter einzelne, polygonale, blaßgrüne, fast chlorotische Flecken. Einige der Flecken haben ein bleiernes Aussehen und sind nur an der Oberfläche der Blätter bei auffallendem Licht bemerkbar. In einzelnen Fällen sind die ersten 1-2 Blätter mit einer Menge von zitronengelben Flecken bedeckt. Im Sommer jedoch bleibt ein Teil der angesteckten Bäumchen im Wuchse zurück, und an den Blättern vom Wipfel des Edeltriebes

herab treten Symptome der Chlorose auf, welche sich immer mehr und mehr verstärken, indem die Blattspreiten sich nach dem Hauptnerv zu aufwickeln und nachher auch bräunlichrote Brennflecken zeigen, welche an den Spreiten oder an den Enden zerstreut sind.

Das Wesen der Krankheit bei fruchttragenden Bäumen ist durch eine noch größere Verschiedenheit der Symptome bezeichnet. Auch hier werden bei einigen der erstentwickelten Blätter zitronengelbe Flecken beobachtet (siehe Abb. 6), jedoch am größten Teil der Blätter befinden sich 1—2—10 polygonale, fast hellgrüne Flecken an der Oberseite

des Blattes, welche im auffallenden, wie auch im durchfallenden Licht sichtbar sind. Auch hier befinden sich Flecken mit bleiernem Aussehen, die nur bei auffallendem Lichte sichtbar sind. Bei manchen Sorten, wie bei der "Portugiesischen Quitte" und "Bereczki" ist das Deformieren der Blattspreite eine bezeichnende Form der Krankheit (siehe Abb. 6 und 7). manchen Fällen haben die einzelnen Flecken das Wachstum der Blätter verhindert, und es trat eine Änderung der Form und der Größe der Spreite auf, indem Krümmungen, Windungen, wellenartige ()berfläche und Reißen der Blätter beobachtet wurden. In einer Reihe von Fällen bemerkt man auch ein Zusammenwachsen der Blätter am Hauptnerv, indem sich nur die entgegengesetzten Hälften der Spreiten an beiden Blättern entwickeln

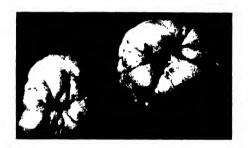


Abb. 9. Deformierung der Früchte bei mit Virus angesteckten Bäumen.

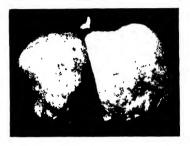


Abb. 10. Zusammenwachsen der Früchte bei mit Virus angesteckten Quittenbäumen.

während die anderen Hälften beim Zusammenwachsen entweder schwach entwickelt sind oder aber gänzlich fehlen. Meistens kommt dies nur an der Basis oder bis zur Mitte der Blattspreiten vor. Später, während der Reifezeit der Früchte bis zum Abfallen der Blätter, wird eine stärkere Mosaikfleckigkeit der Blätter bei einigen Sorten beobachtet. Bei einigen Bäumen der schon erwähnten Sorten, sowie auch bei vielen Bäumen der heimischen Sorten, tritt während dieser Zeit die ('hlorose an den Blättern auf, die sich immer mehr verstärkt, entweder an einzelnen Ästchen und Zweigen oder am ganzen Baum, indem auch Verbrennungen von Blättern erfolgen.

An den Nebenblättern wird ebenso eine Deformierung beobachtet. Am häufigsten falten sie sich ein und zeigen mosaikartig-zerstreute, hellund dunkelgrüne Flecken.

Bei den infizierten Quittenbäumen der Sorte "Portugiesische" im Obstgarten von Obrastzor-tschiflik wurde auch das Deformieren der Blüten beobachtet (siehe Abb. 7): Einige der fünf Blumenblätter hatten sich geteilt, so daß die Anzahl der Blumenblätter bis zehn in jeder Blüte betrug, wobei sich deren Form änderte. Die geteilten Blumenblätter waren schmaler und gekrümmt, und einige gingen an den Seiten in Becherform über.

Während die Früchte einiger heimischer Sorten bis zur Reife keine Krankheitszeichen aufweisen, tritt die Krankheit bei den Früchten der "Portugiesischen" und "Bereczki"-Quitte bereits gleich nach dem Verblühen hervor. An der Oberfläche der Früchte sind tiefe Einfurchungen bemerkbar. Manchmal wurden auch Deformierungen und Zusammenwachsen der Früchte beobachtet (siehe Abb. 8, 9 und 10). Diese Symptome bleiben bis zur Reife der Früchte, indem sich einige noch mehr verstärken.

Zur Reifezeit der Früchte treten bei einigen Sorten, darunter auch die "Portugiesische Quitte", viele kleine vertiefte Flecken an der Oberfläche der Früchte auf, unter denen ein Nekrotisieren der Gewebe beob-



Abb. 11. welche beim Reifen auftreten.



Abb. 12. Stippen (= Bitter pit) an einer Quittenfrucht, Rostfarbige Flecken an einer Quittenfrucht auf mit Virus angestecktem Baum, welche während der Aufbewahrungszeit der Früchte auftreten (siehe Abb. 8, rechts).

achtet wird. Diese Fleckigkeit ist auf die Rückseite der Früchte oder doch auf eine ihrer Hälften begrenzt, umfaßt aber manchmal die ganzen Früchte (siehe Abb. 11). Diese Art Krankheit ist in der Phytopathologie als Stippen (= Bitter pit) bekannt. Bei manchen heimischen Sorten tritt diese Fleckigkeit während der Aufbewahrungszeit der Früchte auf. An den Früchten der "Bereczki"-Quitte sind auch netzartige rostfarbige Flecken während deren Aufbewahrungszeit aufgetreten und haben beinahe die ganze Oberfläche der Früchte umfaßt (siehe Abb. 12).

Die Beobachtungen an den Virus-Erkrankungen der Quitte ergaben bei uns, daß die Mosaikflecken auf den Blättern mehr oder weniger stark auftreten und manchmal bei einigen Sorten und Bäumen überhaupt fehlen. Ebenso erscheint die Chlorose früher oder später oder fehlt zu einer gewissen Zeit völlig. Die Beschädigungen an den Früchten aber erscheinen in den meisten Fällen regelmäßig und massenhaft.

Die Virus-Krankheit der Quitte kommt in verhältnismäßig großem Ausmaße in den Rustschuker Privatgärten vor. Diese Tatsache wurde sowohl beim Auftreten der Chlorose an einer großen Anzahl von Bäumen

als auch an der Menge der kranken Früchte, welche auf den heimischen Märkten verkauft werden, festgestellt.

Um das Wesen der Krankheit zu beweisen, wurde anfangs Juni dieses Jahres eine Knospe einer "Portugiesischen Quitte", welche gelbe Buntheit und einzelne blaßgrüne Mosaikflecken aufwies, auf einen zweiiährigen Apfelwildling okuliert. Einen Monat nach dem Okulieren wurde Fleckigkeit der Apfelblätter konstatiert, die bei auffallendem und durchfallendem Licht sichtbar war. Auf einen anderen Apfelwildling wurden Knospen einer heimischen Quitte verpflanzt, die an den Blättern Chlorose und an den Früchten während der Aufbewahrungszeit Stippen aufwies. 25 Tage nach dem Okulieren wurden kleine, polygonale, mosaikartig zerstreute, blaßgrüne Flecken, von welchen einige verbrannten, bemerkt.

### Schlußfolgerung.

Die Beobachtung sowohl der natürlichen als auch der künstlichen Infektionen zeigt, daß die Mosaikfleckigkeit und die Chlorose der Blätter. sowie die verschiedenen Veränderungen und Stippenflecken an den Früchten der Virus-Erkrankung der Bäume zuzuschreiben sind. Andererseits ist die Tatsache, daß die Infektion der Birne und der Quitte auf Apfel übertragen wird, sowie auch die gleichen Erscheinungen der Krankheit ein Beweis dafür, das sie bei diesen drei Arten von einem gemeinsamen Virus verursacht wird.

## Übersicht über die Literatur.

Wie aus der Arbeit über Mosaikkrankheit bei Äpfeln, so geht auch aus der vorliegenden Veröffentlichung hervor, daß der Autor seine Untersuchungen über Viruserkrankungen bei Äpfeln, Birnen und Quitten in den Baumschulen begonnen hat und die Entwicklung der Krankheit auch an den früchttragenden Bäumen in den Obstgärten verfolgte. Methode der Untersuchung stellte er fest, daß die Viruserkrankungen, die als Mosaik oder Chlorose auftreten, in vielen Fällen von Fäulnis der Wurzeln und vom Absterben der Bäumchen in den Baumschulen begleitet Bei solchen Bäumchen, die die Krankheit überstanden, zeigte sie sich in Form von Stippen auf den Früchten.

Atanasoff (1) rechnet bei seinen kritischen Betrachtungen der Tatsachen, die über die als Stippen bezeichnete Krankheit bisher bekannt sind. auch eine Reihe anderer Schäden hierher (in der amerikanischen phytopathologischen Literatur bekannt als apple blister, drouth spot, cork, blotchy cork, orchard pit und storage pit) und kommt durch Gegenüberstellung mit den Symptomen der Viruserkrankungen bei Kartoffeln, Tomaten, Pflaumen, Kirschen und anderen Sorten, wie auch durch die Tatsache, daß sich bei Äpfeln mehrere Viruskrankheiten vereinigen, zu dem Schluß, daß es sich bei obigen Schäden bei Kernobstsorten um Viruskrankheiten handelt. Vor kurzer Zeit veröffentlichte Atanasoff (2) eine Mitteilung, wonach Mosaikfleckigkeit bei Äpfeln und Birnen festgestellt worden sei und Chlorose bei Quitten, teilweise auch bei Apfelbäumen, die Stippen oder andere Schäden an den Früchten zeigten. Diese Feststellungen wurden sowohl während des Sommers 1933 als auch 1934 gemacht. Er teilt auch die Resultate mit, die er beim Verpflanzen von Knospen kranker Bäume auf gesunde erhielt, nämlich Mosaikfleckigkeit der Blätter. Aus alledem schließt er, daß alle oben angeführten Symptome auf Viruserkrankungen der Kernobstsorten zurückzuführen sind.

Die Ergebnisse der Untersuchungen, die sowohl Herr Prof. Atanasoff als auch der Autor angestellt haben, beweisen, daß beide ihre Untersuchungen über zwei verschiedene Typen der Erkrankung bei Kernobstsorten begonnen haben; faktisch ergibt sich, daß von beiden Seiten gleichzeitig ein- und dieselbe Krankheit untersucht und erforscht worden ist.

Wenn wir die bisherige Literatur über Mosaikkrankheit der Äpfel überblicken, die der Autor in seiner ersten Arbeit (3) erwähnte, so bleibt nur eine Mitteilung von Passy (7) über Mosaikkrankheit der Birne zu erwähnen. Sie ist Otero und Cook (6) entnommen, da ich selbst nicht die Möglichkeit hatte, die Originalarbeit einzusehen.

Über die chlorotische Form der Viruserkrankungen bei Kernobstsorten liegen bisher keinerlei Mitteilungen vor, weil diese Form der Erkrankung als gewöhnliche Chlorose angesehen wurde. Nur durch Analyse der einzelnen Fälle wird auch in Zukunft festzustellen sein, welche von ihnen tatsächlich physiologischer Natur sind und bei welchen von ihnen das bisher betrachtete Virus als Ursache anzusehen ist.

#### Literatur.

- 1 Atanasoff, D., Bitter pit of Apples: A virus disease? Ann. Univ. Sofia. Fac. d'Agric., 12: 31-67, 1933/34.
- 2 Atanasoff, D., Bitter pit of pome fruit is a virus disease. Yearbook Univ. Sofia. Fac. Agr. 13: 1-8, 1934/35.
- 3 Christoff, Al., Mosaikkrankheit oder Virus-Chlorose bei Äpfeln. Phytopathologis he Zeitschrift, 7 (6): 521-536, 1934.
- 4 Hendrickson, A. H., A chlorotic condition of pear trees. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 1924: 87-90, 1925.
- 5 Milad, Y., The distribution of iron in chlorotic pear trees. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 1924: 93-98, 1925.
- 6 Otero, J. I., Cook, M. T., Partial bibliography of virus diseases of plants. Journ. Agric. Univers. Puerto Rico, 18 (1-2): 410 pp., 1934.
- 7 Passy, P., Une nouvelle maladie du poirier. Rev. Hort. 35: 252-253, 1913. (Intern. Agrar. Techn. Rundschau 4: 1152, 1913.)
- 8 Schellenberg, H., Experiment on control of chlorosis in pear trees. Landw. Jahrb. Schweiz, 26 (6): 432-437, 1912.

Aus dem "Bureau of Plant Industry, U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C." und der "Station de Pathologie Végétale Pont de la Maye. Gironde, France".

## Cytologische Beobachtungen an einer Viruskrankheit vom Typus "Streak" oder "Strichel".

Von

Michael Shapovalov und J. Dufrenoy.

(Übersetzt von L. Genevois.)

Mit 8 Textabbildungen.

### Das Krankheitsbild.

Unter dem Namen "streak" verstehen die Autoren englischer Sprache Viruskrankheiten, bei denen lange nekrotische Streifen längs der Rippen, der Blattstiele und der Stengel erscheinen. Jedes "Virus des Tabakmosaiks", vermischt mit einem "Virus der X-Gruppe der Kartoffel" läßt beim Tabak oder bei der Tomate die Anzeichen des "streaks" erscheinen, also Flecken auf den Blättern, nekrotische Streifen auf den Blattstielen und längs der Stengel. Eine Form dieser pathologischen Komplexe, die unsere Aufmerksamkeit vom cytologischen Standpunkt aus erregt hat, ist unter dem Namen "combination streak" ("Kombination-Strichel") in den Vereinigten Staaten bekannt.

Diese Krankheit, die von Shapovalov in Californien untersucht wurde 1), ist durch zwei Virusarten verursacht: 1. das "Tabakmosaik Virus Nr. 1 von Johnson" und 2. das "Virus X, das latente Kartoffelmosaik". In Abb. 1 ist ein Blatt einer Tomatenpflanze wiedergegeben, die mit dem Virus Nr. 1 beimpft wurde; in Abb. 2 ein Blatt einer mit dem latenten Virus X infizierten Pflanze. Simultane Beimpfung mit dem Virus Nr. 1 und dem Virus X läßt die primären Anzeichen des "streaks" erscheinen (Abb. 3 und 5). Später zeigen die jungen Gewebe, die sich nach der Infektion gebildet haben, ein Mosaik, das der schnelleren Ausbreitung des Virus Nr. 1 in der Wirtspflanze entspricht, und nachher Nekrosen, die der langsameren Ausbreitung des Virus X entsprechen.

<sup>1)</sup> Shapovalov, Michael, Effects of chemical on the "combination streak" virus of tomatoes. (Im Manuskript.)

Dank dem geeigneten Material, das durch Shapovalovs Arbeit geliefert wurde, konnten wir vergleichen: 1. Die cytologischen Reaktionen von Nicotiana tabacum unter dem Einfluß des Virus Nr. 1, das von Mosaikinfizierten Tabakpflanzen stammt, und des Virus Nr. 1 der Komponente des "combination streak"; 2. Die nekrotischen Reaktionen von Nicotiana glutinosa unter dem Einfluß jedes dieser beiden Viren. Wir wollten den Beweis liefern, daß das Virus Nr. 1 sich nicht ändert, wenn es mit dem



Abb. 1.

Ein Blatt einer Tomatenpflanze,
die mit dem Virus Nr. 1 beimpft wurde.

Virus X in dem Viruskomplex zusammenkommt, der den "combination streak" verursacht.



Abb. 2.

Ein Blatt einer Tomatenpflanze,
die mit dem latenten Virus X beimpft wurde.

## Cytologische Reaktionen von Nicotiana tabacum.

Wird Nicotiana tabacum mit dem Viruskomplex einer mit "streak" infizierten Tomate beimpft, dann zeigt der Tabak dieselben äußerlichen Symptome, die von Virus Nr. 1 allein verursacht werden. Cytologisch sind die Reaktionen auch identisch. Die Mitochondrien teilen sich zuerst sehr schnell, dann bilden viele von ihnen Stärke, indem sie sich in Amyloplasten umwandeln. Endlich sammeln sich die Mitochondrien längs der cytoplasmatischen, netzartigen Trabekeln, neben einem System von kleinen Vakuolen. Diese fein vakuolisierte Gegend des Cytoplasmas wird bald sehr lichtbrechend und erhält eine besondere Affinität für Farbstoffe, so daß sie differenziert erscheint als "vakuolisierte Inklusionen" (vacuolated bodies). Endlich bilden sich, als Folge einer lokalen Proteolyse, Tyrosinkristalle in Bündeln gruppiert (striated bodies) und Leucinkristalle (plate bodies). (Abb. 8.)



Abb. 3. Ein Blatt einer Tomatenpflanze, die mit dem Komplex beider Viren "Combination Streak" beimpft wurde.



Abb. 5.
Tomatenblatt,
von Shapovalov mit dem Komplex
des Virus "Combination Streak" experimentell beimpft: die ersten Phasen
der Krankheit auf den jungen Blättern,
die sich nach der Impfung gebildet
haben. Das Virus Nr. 1 bildet zunächst ein Mosaik, später werden
nekrotische Flecken, durch Virus X
verursacht, das Bild komplizieren.



Abb. 4.
Nicotiana tabacum,
die mit dem Komplex beider Viren "Combination
Streak" beimpft wurde. (Orig. Takahashi.)

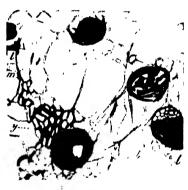
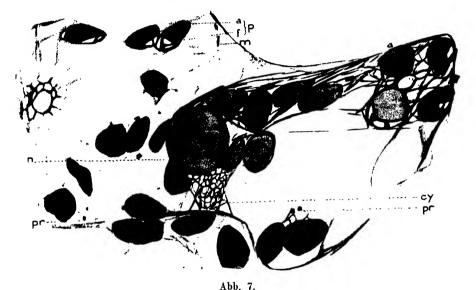


Abb. 6.

Vakuolisierung des Cytoplasmas in der Nähe des Kernes (n) einer Epidermiszelle von Nicotiana glutinosa, 24 Stunden nach der Impfung mit Virus Nr. 1 (aus dem Saft einer an Mosaik erkrankten Nicotiana tabacum - Pflanze). (Nach Musterstücken von Dr. Takahashi, Department of Plant Pathology, University of California, Berkeley), v) Stark färbbares Cytoplasma, mit langen Vakuolen, die ein "Golgiapparatus" in einem "Vacuolated body" andeuten. m) Mitochondrien, sehr zahlreich besonders auf den cytoplasmatischen Trabekeln, die rings um das stark färbbare Cytoplasma liegen. 1) Plasten, die fettartig degeneriert, auf einem Pol und noch färbbar auf dem anderen Pol sind. (Fixierung mit Nemec-Flüssigkeit, Färbung mit Haematoxylin.)

## Nekrotische Reaktionen von Nicotiana glutinosa.

Nicotiana glutinosa reagiert nach der Beimpfung mit Virus Nr. 1 des Tabakmosaiks aus dem Komplex des "streak" genau so wie nach der Beimpfung mit dem Virus Nr. 1, wenn es direkt von der mit Tabakmosaik infizierten Nicotiana tabacum erhalten wird. An den Infektionsstellen verläuft zuerst die Umgestaltung von Mitochondrien zu Amyloplasten, die Stärke bilden. Währenddessen findet in einer anderen Zellgegend eine



Aud. 7.

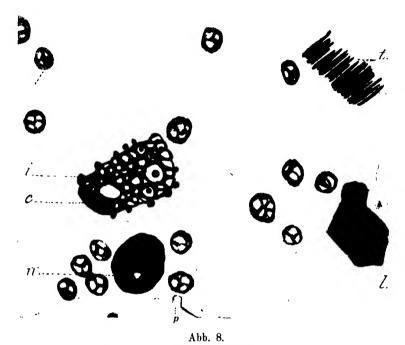
Epidermiszelle eines nekrotischen Fleckes.

Flecken auf einem Blatt von Nicotiana glutinosa nach Impfung mit Virus Nr. 1, das aus dem Komplex "Combination Streak" stammte. In der Nähe des Kernes (n) bildet das fein vakuolisierte Cytoplasma ein sehr stark färbbares Netz (cy) (Andeutung des "vacuolated body"). Die Amyloplasten (a) werden durch die Plasmolyse des Cytoplasmas zusammengeballt; Kristalloide aus Eiweißstoff (pr) und Mitochondrien (m) befinden sich zahlreich auf den cytoplasmatischen Trabekeln. p) Plasten, die fettartig degeneriert auf einem Pole (f) und noch färbbar auf dem anderen Pole sind (a).

sehr starke Proteolyse statt; das Cytoplasma wird zu einem Netz zwischen zahlreichen kleinen Vakuolen. Diese lokale Änderung des Cytoplasmas führt nicht zur Bildung von "vesikulierten Körpern"; in der Gesamtheit der Zelle schrumpft das Cytoplasma zusammen, als ob die Zelle plasmolysiert wäre: die Plasten kleben zusammen, die Zelle stirbt. Rings um die nekrotische Zone, wo die Zellen schnell abgestorben sind, beobachten wir aktive Zellen, die lange genug leben, um phenolartige Körper wenigstens in manchen von ihren Vakuolen zu bilden. (Abb. 7.)

Diese Andeutung der Bildung von phenolartigen Körpern hat eine große Bedeutung vom Standpunkt der Immunitätsforschung aus. Die allgemeine und schnelle Bildung von phenolartigen Körpern im Vakuolensaft

ist für die reagierenden Zellen der "Ringflecken" charakteristisch. Es gibt eine bestimmte Korrelation im Falle der Viruskrankheiten wie im Falle des mikroskopischen Parasiten, zwischen der Schnelligkeit und der Üppigkeit, mit denen sich die phenolartigen Körper bilden einerseits und der Tendenz zur Begrenzung der Parasitenverbreitung anderseits.



Epidermiszelle eines Blattes von Nicotiana tabacum, Blatt von Shapovalov mit dem Viruskomplex des "Combination Streak" geimpft, d. h. mit dem Virus Nr. 1 von Johnson zusammen mit dem Virus latent der Kartoffel (mildere Form des Virus X). Das Mosaik, das sich gezeigt hat, gehört zum Virus Nr. 1: diese Zelle zeigt die charakteristischen Einschlüsse dieses Virus: c) Abgestorbener Teil des Cytoplasmas, fein vakuolisiert, dieser Teil zeigt phenolartige Niederschläge im Inneren der Vakuolen und fettartige Tröpfchen (i) (mit Indophenolblau, blau). l) Kristalle einer Aminsäure, wahrscheinlich Leucin. t) "Striate bodies", wahrscheinlich Tyrosinkristalle. p) Plasten, die sich um den Kern (n) zusammenballen.

#### Schriftenverzeichnis.

Dufrenoy, J., Etudes cytologiques relatives aux maladies à virus. Phytopathologische Zeitschrift, 1, 151-167, 1929.

Jones, L. K., Anderson, E. J. and Burnett, G., The latent virus of Potatoes. Phytopathologische Zeitschrift, 7, 93-117, 1934.

Koehler, E., Viruskrankheiten der Kartoffel. Phytopathologische Zeitschrift 7, 1-31, 1934.

Quanjer, Über eine komplexe Viruskrankheit des Tabaks. Phytopathologische Zeitschrift, 6, 325-335, 1933.

## Beitrag zur Kenntnis der chemischen Beschaffenheit von krebsverseuchten Kartoffelböden.

Von

#### Antonin Němec.

Nach den bisherigen Anschauungen, welchen wir in der gegenwärtigen Fachliteratur begegnen, hat die chemische oder sonstige Zusammensetzung des Bodens keinen besonderen Einfluß auf das Vorkommen des Kartoffelkrebses. Von den chemischen Eigenschaften des Bodens wurde speziell der Einfluß der Azidität bzw. Alkalität auf die Entwicklung des Krebserregers (Synchytrium endobioticum) untersucht, jedoch sind bisher keine Beziehungen seines Wachstums zur Bodenreaktion aufgefunden worden. Esmarch (1) kam schon zu dem Ergebnis, daß die Bodenreaktion für diesen Pilz keine Rolle spiele. Nach Untersuchungen von Weiß (2) wurde das Auftreten der Krebskrankheit auf Böden von pH = 3,9-8,5 beobachtet; das Infektionsoptimum soll nach Weiß allerdings bei dem pH-Wert 5.0 liegen. Bei künstlich hervorgerufenen stark sauren (pH = 3.6) und stark alkalischen Reaktionen (pH = 8,7) des Bodens wurde keine Infektion festgestellt, der Ertrag war jedoch sehr reduziert. Auch Potter (3) glaubte, daß die Infektion durch starke Alkalität unterdrückt werden kann. So scheiterte die Infektion, wenn die Reaktion des Bodens durch Kalken oder Zugabe von kohlensaurem Natron (Soda) von pH = 7,5 auf 10,5 gebracht wurde; gleichzeitig ist jedoch auch der Ertrag stark gesunken. Keine Infektion konnte in Versuchsgefäßen konstatiert werden, deren Boden höhere Alkalität als pH = 8,5 bei der Ernte aufwies. Nachdem jedoch so hohe Alkalitätsgrade dem Kartoffelwachstum keineswegs entsprechen, muß man mit der Schlußfolgerung der eingehenden Untersuchungen von Mever-Hermann (4) übereinstimmen, welche die Annahme bestätigen, daß der Bodenreaktion keine praktische Bedeutung für die Bekämpfung des Kartoffelkrebserregers zukommt.

Im Rahmen von Untersuchungen, welche durch den Verfasser im Biochemischen Institute der staatlichen landwirtschaftlichen Versuchsanstalten in Prag unter Mitwirkung des Phytopathologischen Institutes (Vorstand: Dozent Dr. F. Straňák) ausgeführt wurden, haben wir die chemische Zusammensetzung einiger Bodenproben von stark mit Kartoffelkrebs verseuchten Lokalitäten in Böhmen festgestellt. Von den bisher durchgeführten Untersuchungen sollen in nächstfolgenden Tabellen Ergebnisse

von Bodenuntersuchungen aus den nordböhmischen und südböhmischen Grenzgebieten mitgeteilt werden.

Tabelle 1. Nordböhmen.

Gemeinde Feld	Beschaffenheit des Bodens	löslich ir	ffgehalt, 1 1% iger ensäure	CaCO <sub>s</sub>	Aus- tausch- azidität pH	Kalk und Magnesia löslich in 10 % iger NH <sub>4</sub> Cl-Lösung	
		P,O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O mg/kg			CaO mg/100 g	Mg0 mg/100 g
Arnsdorf Nr. 254	humoser lehmiger Sand	760,0	360,0	0	5,47	263	74,9
Arnsdorf Nr. 298	humoser sandiger Lehm	580,0	289,5	0	5,31	348	94,8
Plottendorf Nr. 14 Hillemühl	stark humoser lehmig- sandiger Boden	780,0	469,5	0	5,83	384	90,5
Kriegsfeld Schluckenau	stark humoser sandiger Lehm	740,0	198,0	0	4,05	397	92,3
Versuchsfeld Silberbach	humoser sandiger Lehm	307,6	189,0	0	4,70	176	108,2
bei Graslitz Nr. 377	stark humoser Lehm- boden	240,0	234,0	0	5,61	458	97,3

Die Böden der stark mit Krebs verseuchten Kartoffelfelder in Nordböhmen sind allgemein humusreich, sehr reich an Phosphorsäure und Kali und zeigen saure bis stark saure Reaktion (Austauschazidität). Der Gehalt an austauschbarem Kalk und Magnesia ist niedrig.

Ein ziemlich ähnliches Bild bieten auch die Untersuchungen der Bodenproben vom südlichen Böhmerwaldgebiete (siehe Tabelle 2).

Nach den Untersuchungen sind die verseuchten Kartoffelfelder ziemlich gut mit Stickstoff versorgt, sehr kalireich und überwiegend phosphorsäurearm. Sämtliche Böden waren frei von kohlensaurem Kalk, zeigten saure bis stark saure Reaktion und eine ausgesprochene Armut an assimilierbaren Kalk- und Magnesiaverbindungen. Es handelt sich durchaus um sehr stark mit Stallmist gedüngte Felder, welche nie eine Kalkdüngung bekommen haben. Die chemische Zusammensetzung der böhmerwalder Lokalitäten des Krebsvorkommens zeigen (bis auf den Phosphorsäuregehalt bei einigen Proben) ein ähnliches Bild wie die nordböhmischen: humose, nährstoffreiche (besonders stickstoff- und kalireiche), saure bis stark saure und kalk- bzw. magnesiaarme Böden. Man kann annehmen, daß die starke und oft wiederholte Stallmistdüngung bis Überdüngung dieser kleinen Feldstücke eine Stickstoff- und Kalibereicherung dieser

Tabelle 2. Siidböhmen

	Nährs	stoffgehalt, in	löslich			Kalk und Magnesia			
Gemeinde	1 % iger Kalium- sulfat- lösung	1 % iger Zitronen- säurelösung		('a('O <sub>B</sub>	Aus- tausch- azidität	löslich in 10 % iger NH4Cl-Lösung			
	N mg/kg	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> K <sub>2</sub> O mg/kg			pН	CaO mg/kg	MgO mg/kg		
Neugebau Eidner Nr. 8 Gansauerhaid K. Stepauer : Seehaid W. Hani Nr. 5 ; Neubusk W. Robl Fürstenhut A. Bayer Nr. 11 Eleonorenhain E. Till Nr. 8	67,6 48,9 51,3 51,3 58,8 21,2	100,5 56.5 90,5 137,0 299,0 258,0	510,0 237,0 624,0 879,0 448,5 591,0	0 0 0 0 0	4,51 4,60 4,46 4,53 4,37 5,12	193,5 239,4 199,9 186,5 210,2 506,8	67,6 48,9 115,5 110,4 135,0 90 9		

Böden hervorgerufen hat, und daß damit teilweise auch günstigere Bedingungen für die Ausbreitung des Pilzerregers geschaffen wurden. Denn nach Esmarch (1) kann der Nährstoffgehalt des Bodens einen bestimmten Einfluß auf die Entwicklung des Pilzes Synchytrium endobiotieum Schilb. ausüben: die nährstoffreichen und insbesondere nitrat-stickstoffreichen Böden sind günstiger für eine Krebsverseuchung als die nährstoffarmen. Die durch Nitrifikation und Ammonisation des Stallmiststickstoffs gebildeten Nitrate und Ammonsalze unterstützen die Keimung des Pilzes und dadurch die Verbreitung der Krebserkrankungen.

Aus den Ergebnissen der Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung der Bodenproben von krebsverseuchten Lokalitäten in Nord- und Südböhmen können selbstverständlich keine Schlußfolgerungen betreffs des Einflusses der Bodenbeschaffenheit auf die Verbreitung der Krebserkrankung abgeleitet werden. Es kann nur konstatiert werden, daß die Böden der versenchten Feldstücke, soweit sie bisher untersucht wurden, saure bis stark saure Austauschreaktion, verhältnismäßigen Reichtum an leicht löslichen Nährstoffen (Stickstoff, Kali) und einen unzureichenden Gehalt an assimilierbaren Kalk- und Magnesiaverbindungen aufweisen. Weitere Untersuchungen über die chemische Natur der krebsverseuchten Böden, besonders über die chemisch-biologischen Bedingungen erscheinen erforderlich.

#### Schriftenverzeichnis.

- 1 Esmarch, F.: Deutsche Landw. Presse 51, 11, 18, 1924; Angewandte Botanik 8, 102, 1926; 9, 88, 1927; 10, 280, 1928.
- 2 Weiß, Fr.: Amer. Journ. of Bot. 12, 413, 1925.
- 3 Potter, M. C.: Journ. Board Agr. 9, 320, 1903.
- 4 Meyer, H.: Dissertation Bonn-Poppelsdorf 1929.

## Aus dem Institut für Phytopathologie der Landbauhochschule in Wageningen und dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.

## Versuche über den Einfluss des Klimas auf den Gesundheitszustand der Kartoffelpflanze.

Von

#### H. M. Quanjer und Ernst Gäumann.

Mit 6 Textabbildungen.

Inhalt: I. Einleitung: 1. Ältere englische Ansichten; 2. Deutsche Ansichten; 3. Ansichten aus Frankreich, der Schweiz und Belgien; 4. Holländische Ansichten. 5. Vergleich der Beobachtungen in anderen Ländern mit den holländischen. 6. Heutige Kenntnisse, soweit hier von Interesse. — II. Eigene Versuche über den Einfluß des alpmen Klimas: 1. Fragestellung und Versuchsanordnung; 2. Beantwortung der Fragen. — III. Zusammenfassung. — IV. Literatur.

#### I. Einleitung.

Den Biologen, die sich mit dem Studium der Viruskrankheiten der Kartoffel beschäftigen, wurde oft und wird noch neuerdings (Klapp, 1934) der Vorwurf gemacht, daß sie sich auf die Arbeit im Versuchsfeld, im Gewächshaus und im Laboratorium beschränken und in ihrer Einseitigkeit übersehen, daß ökologische Faktoren wie Klima und Boden in der Herbeiführung des Kartoffelabbaues ausschlaggebend sind. Demgegenüber soll in der Einleitung zur vorliegenden Arbeit gezeigt werden, daß die Erfahrungen von anderthalb Jahrhunderten, gesammelt unter den verschiedenartigsten ökologischen Verhältnissen, von Schottland bis zur Insel Java und von Britisch Kolumbien bis nach Tasmanien, unsere Ansicht nicht erschüttern, daß am Ertragsrückgang der Kartoffeln ausschließlich die Viruskrankheiten die Schuld tragen; sodann sollen diese Erfahrungen in eigenen Untersuchungen bis zu einer Höhe von 1680 m ü. M. erweitert werden.

1. Ältere englische Ansichten. Schon in der zweiten Hälfte des 18. Jahrhunderts wußte man in England, daß das von "leafcurl" begleitete Entarten der Kartoffelpflanze behoben werden konnte durch die Beschaffung von Saatgut aus Schottland oder aus höheren Lagen und Moorgebieten in England, wo es im Frühsommer und im Frühherbst Schnee und Fröste gab. Eine Übersicht über ältere Erfahrungen auch aus Irland gibt Davidson (1928). Vielfach wurde der günstige Einfluß, den dieses für die Mutterpflanzen ungünstige Klima auf die Nachkommenschaft aus-

übte, der unvollständigen Reife der geernteten Saatkartoffeln zugeschrieben. Zahlreiche Versuche, u. a. von Hutchinson (1916) wurden zur Bestätigung dieser Ansicht unternommen.

- 2. Deutsche Ansichten. Es erübrigt sich hier, die deutsche Abbauhypothese zu bekämpfen, zumal weil Volkart sie vor kurzem (1933) einer Kritik unterworfen hat. Nur eine der für unsere Ausführungen wichtigsten deutschen Erfahrungen möchten wir hier erörtern. In diesem Lande wurde im 19. Jahrhundert aus theoretischen Gründen der Verwendung reif geernteter Pflanzkartoffeln das Wort geredet. fassung schien durch einen Versuch von Hellriegel (1883) bestätigt zu werden. Als Remy (1918) die angebliche Minderwertigkeit unreif geernteter Pflanzkartoffeln, ihren schnellen Abbau und große Anfälligkeit für Blattrollkrankheit recht greifbar für seine Vorlesungen vor Augen führen wollte, trat zu seinem Erstaunen der den Erwartungen entgegengesetzte Erfolg ein. Die zweite Auflage seines Handbuches des Kartoffelbaues (1928) unterscheidet sich denn auch von der ersten dadurch, daß er sich einverstanden erklärt mit der englischen Erfahrung. An seiner Bekehrung waren u. a. auch die von ihm besuchten Wageninger Kartoffeltagungen (1922, 1924, 1926 usw.) schuld. Einer der Versuche Remys wurde 1921 mit "Holländischer Erstling" ausgeführt, welche er je zur Hälfte in Poppelsdorf und im Eifelgebirge auspflanzen ließ. Die Poppelsdorfer Ernte fiel trotz der Dürre quantitativ befriedigend, qualitativ hervorragend aus, während in der Eifel in beiden Beziehungen eine totale Mißernte zu verzeichnen war. Der den tadellosen Knollen entstammende Poppelsdorfer Nachbau lieferte aber einen zu 94 % total abgebauten Bestand; in Remys Abbildung erkennt man Blattrollkrankheit und Mosaik in allen Pflanzen. Der einer Mißernte entstammende und äußerlich miserabel aussehende Eifeler Nachbau lieferte fast nicht abgebaute Pflanzen mit einem mehr als zweimal größeren Ertrag. Da jetzt Köhler sich auch auf Versuchsfeldern, im Gewächshaus und im Laboratorium mit der Frage befaßt, wird den deutschen Versuchen eine exaktere Grundlage gegeben werden.
- 3. Ansichten aus Frankreich, der Schweiz und Belgien. Constantin (1932 u.f.J.) hat auf die Entdeckung von Mycorrhizen in den Anden, 4000 m ü. M., durch seine Mitarbeiter Noel Bernard und Magrou die Hypothese aufgebaut, daß Solanum tuberosum im Gebirge durch die Wirkung von Mycorrhizen gesund bleibt bzw. genesen würde von der Entartung, welcher die Pflanze im Kulturgebiet des Flachlandes unterliegt. Er hat aber zu wenig auf die Möglichkeit geachtet, daß durch Anwendung seiner "cure d'altitude" einige Gebirgsgegenden, wo vorher diese Krankheit nicht auftrat, mit Blattroll und Mosaik verseucht werden können. Ducomet (1927), Ducomet und Diehl (1934), Martinet (1899—1914), Verplancke (1932, 1934) u.a. haben über diese Frage

genauere Beobachtungen gemacht. Es geht daraus hervor, daß die Nachkommenschaften von gesunden Pflanzen aus dem Gebirge und der Fläche, wenn sie nicht infiziert worden sind, sich weder in Gesundheit noch in Produktionsfähigkeit wesentlich voneinander unterscheiden. Ducomet hebt hervor, daß nur die Infektion im Gebirge in beschränkterem Maße stattfindet. Eine genesende Wirkung des Gebirgsklimas auf viruskranke Pflanzen hat er nicht beobachtet; er meint, daß dieses Klima dagegen die Krankheitssymptome akzentuiert. Richtig in dieser Hinsicht ist auch eine Bemerkung Volkarts (1933): es gibt in Gebirgstälern in der Schweiz Kartoffeläckerchen, auf denen Stock für Stock blattrollkrank ist.

- 4. Holländische Ansichten. Genauere Untersuchungen über den Pflanzwert des aus Gegenden mit verschiedenem Klima stammenden Saatgutes sind erst möglich geworden, nachdem in Holland 1913—1920 entdeckt worden ist, daß Blattroll und Mosaik ansteckende Krankheiten sind (Quanjer, 1916), und nachdem gefunden worden ist, wie die Infektion auf dem Felde von kranken Pflanzen auf ihre gesunden Nachbarn durch Blattläuse, hauptsächlich die Pfirsichblattlaus, Myzus Persicue Sulz., übertragen wird (Oortwijn Botjes, 1920). Der letztgenannte Untersucher hatte schon 1916 virusfreies Saatgut der für Blattroll empfindlichen Sorte "Paul Krüger" gezüchtet. Die Erfahrungen an den holländischen Meeresküsten, wo Blattläuse spät und vereinzelt auftreten, lehrt, daß dort durch Selektion ein besseres Saatgut zu erhalten ist als in geschützteren Lagen im Osten dieses Landes, wo die genannte Aphide häufiger vorkommt.
- 5. Vergleich der Beobachtungen in anderen Ländern mit den holländischen. Mehr oder weniger unabhängig voneinander wurden in Bermuda (Wortley, 1918), Canada (Murphy, 1918, Howitt, 1920), England (Cotton, 1922), Dänemark (Gram, 1923), den Vereinigten Staaten (Schulz und Folsom, 1923, Gardner und Kendrick, 1924, u.a.) Versuche über den Einfluß der Klimate auf den Gesundheitszustand der Kartoffelpflanze angestellt. Zusammenarbeit ermöglichte den Vergleich des Einflusses der Klimate Schottlands und Hollands (Quanjer, 1925) und des Mährischen Hochlandes, der Böhmischen Niederung und Hollands (Blattny, 1926, Elze, 1927).

Nur aus den dänischen Versuchen wurde von ihrem Ansteller, Gram, der Schluß gezogen, daß es eine Gesundung von blattrollkranken Kartoffeln im rauhen Klima gäbe; die Richtigkeit dieser Schlußfolgerung bezweifeln wir, wie bei der Besprechung der eigenen Versuche hervorgehoben werden wird.

Eine genesende Wirkung des Klimas ist in Holland niemals beobachtet worden. In Holland, wie in anderen Ländern, verschwinden oft die Symptome des Mosaiks im Hochsommer. Wenn aber kühles, regnerisches Wetter eintritt, kommt die maskierte Krankheit im neuen Zu-

wachs zum Vorschein; auch die Nachzucht beweist, daß sie nicht verschwunden ist. Statt der angeblich genesenden Wirkung des kühlen Klimas beobachtet man, wie auch Ducomet u.a. (1924) berichten, ein deutlicheres Hervortreten der Symptome unter dem Einfluß niederer Temperaturen. Die direkte physiologische Wirkung der äußeren Umstände auf das Wachstum der Kartoffelpflanze kann man erst dann durch Feldversuche studieren, wenn man eine genügende Quantität gesunden Saatgutes zur Verfügung hat. Einwandfreie Versuche in dieser Hinsicht haben in Holland gezeigt, daß solche Standortseinflüsse bestehen und daß sie die Qualität des Saatgutes beeinflussen; ihre Wirkung ist aber reversibel, d. h. sie verschwindet, wenn der Nachbau unter gleichen Standortsverhältnissen stattfindet. Es ist nur die Infektion, welche die irreversible Erscheinung hervorruft, welche man als Abbau bezeichnet. Dasselbe geht hervor aus sehr sorgfältig während einer längeren Reihe von Jahren durchgeführten Versuchen von Brown und Blackman (1930), wie auch aus denjenigen Ducomets (1934).

Der Hauptteil der Klimawirkung beruht auf der Empfindlichkeit der Pfirsichblattlaus. An Seeküsten und Gebirgslagen tritt sie, wie aus Elzes und Blattnys Beobachtungen hervorgeht, nur spät und vereinzelt auf; es fehlt dort der Pfirsichbaum, auf welchem sich die geschlechtliche Vermehrung und die Überwinterung vollziehen; es sind dort auch die ungeschlechtlichen Individuen, welche im milden Klima, nach W. M. Davies (1932), auf Kohlgewächsen überwintern können, viel seltener.

6. Heutige Kenntnisse, soweit hier von Interesse. Neben der Blattrollkrankheit, welche faktisch nur durch die Pfirsichblattlaus, nicht mittels Reibung von Nachbarpflanzen oder mechanischer Saftübertragung verbreitet wird, kommen drei Gruppen von Mosaikkrankheiten beim "Abbau" in Betracht. Diejenigen der ersten Gruppe, welche uns hier am meisten interessiert, werden durch die genannte Blattlausart, aber nicht oder nur ausnahmsweise mittels Saftes verbreitet. Ein Mosaik dieser Gruppe wurde in unseren näher zu beschreibenden Versuchen zur Infektion benutzt (anekrotisches Mosaik, Quanjer, 1931, verwandt dem A-virus von Murphy, 1931). Es ist das in Europa meistverbreitete Mosaik. Die zweite Gruppe enthält eine Mosaikkrankheit, welche sich nur in einigen Kartoffelsorten als Mosaik äußert, in anderen aber Kräusel, in wieder anderen akropetale Nekrose hervorruft (Quanjer, 1931); das englische y-Virus (Kenneth Smith, 1931) verursacht eine ähnliche, aber nicht identische Krankheit. Als dritte Gruppe kommen Mosaikerscheinungen in Betracht, welche sich bisher nur mittels des Saftes übertragen ließen und über deren biologische Übertragung noch nichts bekannt ist. Einige Kartoffelsorten reagieren auf diese Vira mit Akronekrose (Quanjer, 1931). Es gehören zu dieser Gruppe auch die x-Vira von Kenneth Smith, 1931, und Köhler, 1933.

Festzuhalten ist, daß es für ein jedes dieser Vira wenigstens einige Kartoffelsorten gibt, in welchen sie mosaikähnliche Symptome hervorrufen. Ein jedes dieser Vira behält seine Selbständigkeit. Das erstgenannte Mosaik z. B. geht nicht etwa im folgenden Jahre in eine Kräuselkrankheit über, sondern es bleibt Mosaik. Nur wenn ein zweites Virus dazutritt, kann eine komplexe Krankheit entstehen, welche sich durch starke Kräuselung kennzeichnet. So kann eine kombinierte Infektion eines Mosaiks der ersten oder zweiten Gruppe mit einem der dritten Gruppe oder auch mit Blattroll eine stärkere Krankheit mit Kräuselung bzw. Zwergwuchs hervorrufen (Murphy, 1931, 1932, Salaman, 1931).

Die Blattrollkrankheit unterscheidet sich vom Mosaik durch den Umstand, daß jene eine längere Inkubationszeit hat als diese. Im kühleren Klima kommen ihre Symptome selten zum Vorschein in dem Jahre, in dem die Übertragung stattfand, öfters erst im folgenden Jahre, also in der Nachzucht. Dagegen werden die Mosaiksymptome schon einige Wochen nach der Infektion sichtbar. In kalten Ländern und in Gebirgsgebieten verraten sich auch die Neuinfektionen des Mosaiks oft erst in der Nachzucht. Das ist teilweise darauf zurückzuführen, daß eine schnelle Virusausbreitung nur in Pflanzen auftritt, welche sich unter optimalen Verhältnissen, also auf nährstoffreichen Böden (Böning, 1928, Janßen, 1929), und bei nicht zu niedrigen Temperaturen entwickeln, wie man diese im gemäßigten Klima nur in der Ebene oder in der Schweiz nur im Vorland vorfindet.

Von Interesse sind auch die neueren Beobachtungen von Whitehead, Currie und Davies (1932), aus denen hervorgeht, daß spät auftretende Blattläuse die Pflanzen in einem Zustand der Reife vorfinden, in welchem ein in die Pflanzen geimpftes Virus die Knollen kaum noch erreichen kann.

## 11. Eigene Versuche über den Einfluß des alpinen Klimas.

## 1. Fragestellung und Versuchsanordnung.

In der Schweiz war durch Feldbeobachtungen und durch die Tätigkeit der landwirtschaftlichen Versuchsanstalten bekannt, daß in der alpinen Region die Viruskrankheiten der Kartoffeln in der Regel weniger auftreten als im Vorland. Die in der vorliegenden Arbeit besprochenen Versuche wurden ausgeführt, um in dieser Hinsicht ein zahlenmäßiges Beispiel zu beschaffen und um die Ursache dieser Erscheinung wenn möglich kennen zu lernen; sie beschäftigen sich u. a. mit zwei Hauptfragen.

- 1. Wie verhält sich bei gleicher Versuchsanordnung die Infektionshäufigkeit in der alpinen Region und im Vorland?
- 2. Gibt es noch andere Erscheinungen, Genesung, Heftigkeit des Krankheitsbildes, welche vom alpinen Klima bewirkt bzw. beeinflußt werden?

Tabelle 1. Häufigkeit der Erkrankung der Tochterpfianzen.

1000		Häufigkeit der Erkrankung der Tochterpflanzen						
Von 192 gesunden Eigenheimer Knollen je eine Hälfte gepflanzt in Clavadel (1680 m ü. M.), die andere Hälfte in Zürich (450 m ü. M.)	1933	100 °/, gesund	1 25 % Mosaik	26 – 50 % Mosaik	51-75 % Mosaik	76-100 % Mosaik	total Mesaik	Total der Tochter- familien
Abbildung 1: Leere Kreise: gesunde Pflanzen; schwarze und halbschwarze: Infektionsquellen	Abb.	Leere Kreise	Kreise mit schwarzem Viertelsektor	Halb schwarze Kreise	3/4 schwarze Kreise	völlig schwarze Kreise		
1933 146 Knollenhäufchen in Clavadel geerntet, ausgepflanzt je für die Hälfte in Clavadel, besichtigt 15. bis 17. Juli und 12. bis 14. August	2/3	129 122 114	11 9 12	3 7 12	2 4 4	1 4 4	17 24 32	146 146 146
in (!lavadel, besichtigt 15. bis 17. Juli und 12. bis 14. August	$\frac{4}{5}$	53 44 16	18 14 27	24 8 14	23 5 5	67 112 123	132 139 169	185 185 185

Tabelle 2. Heftigkeit der Symptome der Tochterpflanzen 1933.

The second secon	Gesund	Schwach erkrankt	Stark erkrankt	Zahl der Individuen
1048 Knollen aus Clavadel, ausgepflanzt je für die Hälfte in Clavadel, aufgegangen 438 Besichtigung 15. bis 17. Juli und 12. bis 14. August in Zürich, aufgegangen 515 Besichtigung 15. bis 17. Juli Besichtigung 12. bis 14. August .	412 471 447	24 34 58	2 10 10	438 515 515
1368 Knollen aus Zürich, ausgepflanzt je für die Hälfte in Clavadel, aufgegangen 617. Besichtigung 15. bis 17. Juli und 12. bis 14. August.	267 265 (Juli) (Aug.)	206 208 (Juli) (Aug.)	144	617
in Zürich, aufgegangen 682 Besichtigung 15. bis 17. Juli Besichtigung 12. bis 14. August	241 143	89 186	352 353	682 682

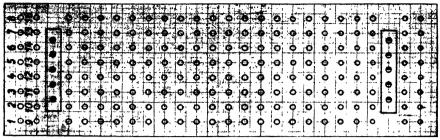


Abb. 1. 1932 Plan der Versuchsfelder in Clavadel und Zürich.

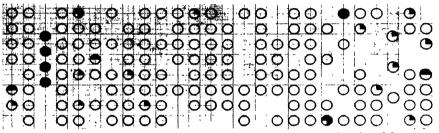
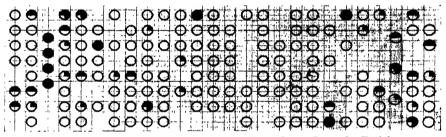


Abb. 2. 1933 Tochterfamilien aus Clavadel, gepflanzt in Clavadel.



Abh. 3. 1933 Tochterfamilien aus Clavadel, gepflanzt in Zürich.

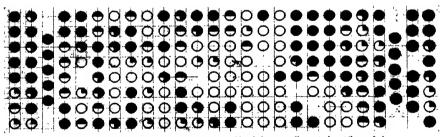


Abb.4. 1933 Tochterfamilien aus Zürich, gepflanzt in Clavadel.

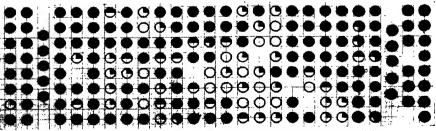


Abb. 5. 1933 Tochterfamilien aus Zürich, gepflanzt in Zürich.

Das alpine Versuchsfeld wurde auf dem Areal der Züricher Heilstätte in Clavadel bei Davos, etwa 1680 m ü. M., angelegt, dasjenige des Vorlandes im Garten des Institutes für spezielle Botanik der Technischen Hochschule in Zürich, etwa 455 m ü. M. bzw. auf einem der Eidg. landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon gehörenden Areal in Brüttisellen bei Zürich etwa 450 m ü. M.¹).

Die Versuche wurden wie folgt angeordnet. Im Frühjahr 1932 wurden etwa 200 virusfreie Eigenheimer Knollen aus Wageningen nach Zürich gesandt. Jede Knolle wurde dort unter Berücksichtigung der üblichen Vorsichtsmaßnahmen in zwei Hälften zerschnitten und je in eine gesonderte Papiertüte mit der entsprechenden Nummer gelegt, z. B. 1 A und 1B, 2A und 2B usw., so daß die zusammengehörenden Hälften stets als solche erkennbar waren. 192A-Hälften wurden für das Versuchsfeld in Zürich verwendet, die zugehörenden 192B-Hälften für das Versuchsfeld in Clavadel.

Die Anordnung der Versuchsfelder war in beiden Fällen die gleiche (Abb. 1): 24 Reihen zu je 8 Knollen, numeriert von 1—192 und in der Weise angepflanzt, daß die Knollenhälfte 1 Å in Zürich an genau die gleiche Stelle des Versuchsfeldes zu liegen kam wie die entsprechende Knollenhälfte 1 B in Clavadel, desgleichen 2 Å in Zürich und 2 B in Clavadel usw. Der Abstand der Reihen und der Stauden in den Reihen betrug je 55 cm.

Das Mosaik, das zur Infektion benutzt wurde, kommt in Europa überall vor und ist leicht durch Blattläuse übertragbar. Es gehört zu der ersten der in der Einleitung unter 6. genannten Gruppen.

Zwischen der zweiten und dritten Reihe wurden als erster Infektionsherd fünf halbe mosaikkranke Knollen aus Wageningen ausgepflanzt (wieder die entsprechenden Hälften in Zürich und in Clavadel); als zweiter Infektionsherd wurden zwischen der 22. und 23. Reihe fünf kranke Knollenhälften mit fünf gesunden Knollenhälften zusammengebunden und ausgelegt (wieder die entsprechenden Hälften in Zürich und in Clavadel). Der Versuch in Zürich wurde am 14. Mai 1932 eingeleitet, derjenige in Clavadel am 18. Mai. Wegen der großen Entfernung Zürich—Clavadel war eine andauernde Überwachung des Auftretens von Blattläusen leider nicht möglich; der vorliegende Versuch vermag daher in dieser Hinsicht keine Auskunft zu geben. Leider fehlen aus diesem Grunde auch Beob-

<sup>1)</sup> Wir danken Herrn Obergärtner O. Riethmann für die sorgfältige Betreuung der Versuche, ferner den Herren R. Hottinger, Verwalter der Züricher Heilstätte in Clavadel, und Dr. F. T. Wahlen, Direktor der Eidgenössischen landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon, für die Überlassung der Versuchsfelder und für mannigfachen Rat und manche Hilfe. Endlich möchten wir unsern besonderen Dank dem Schweizerischen Schulrat und seinem Präsidenten, Herrn Professor Dr. A. Rohn, abstatten für die finanzielle Unterstützung, die uns die genauere Durchführung der Versuche erst ermöglichte.

achtungen über den Fortschritt des Wachstums der Pflanzen und über Mosaiksymptome im Jahre 1932.

Die Ernte der Versuche erfolgte in der ersten Hälfte Oktober 1932. Da die Versuchsfelder absichtlich nicht gedüngt worden waren, fiel der Gewichtsertrag verhältnismäßig gering aus; er konnte aus technischen Gründen nicht genau bestimmt werden. Der Ertrag jeder Staude wurde für sich getrennt in eine Papiertüte mit der entsprechenden Kontrollnummer eingefüllt. In Zürich waren 185 Stauden aufgegangen (Fehlstellen siehe Abb. 4 u. 5), in Clavadel wegen des rauhen Klimas (Spätfröste und wiederholter Schneefall) nur deren 146 (Abb. 2 und 3). Die Züricher Ernte wurde in Zürich, die Clavadeler Ernte in Clavadel eingekellert. Weil, wie in der Einleitung erörtert wurde, Beobachtungen über den Einfluß des Gebirgsklimas auf die Produktivität schon u. a. von Ducomet gemacht worden sind, ist bei den vorliegenden Versuchen das Hauptgewicht auf die Beobachtungen von Viruskrankheiten in der Nachkommenschaft im Jahre 1933 gelegt worden. Durch diese Beobachtungen sollten die folgenden Fragen beantwortet werden.

- a) Gibt es eine Genesung der 1932 schon kranken Pflanzen?
- b) Wieviel der 146 anfänglich gesunden, in Clavadel geernteten Mutterstauden und der 185 Mutterstauden in Zürich sind im Laufe des Sommers 1932 durch das Virus der Mosaikkrankheit angesteckt worden?
- c) Wieviel Knollen dieser 146 bzw. 185 Mutterstauden tragen das Virus in sich?
- d) Rührt die Infektion, welche 1932 stattgefunden hat, nur aus den absichtlich gepflanzten Infektionsquellen her oder gibt es noch andere Ursachen der Erkrankung?
- e) Wie stark sind die Krankheitssymptome, welche die aus diesen Knollen gezogenen Tochterindividuen zeigen, wenn man je die eine Hälfte der Knollen in Clavadel, die andere in Zürich auspflanzt?
- f) Wie verbreitet sich die Krankheit weiter in Clavadel bzw. Zürich 1932?
- g) Wie stark sind die Krankheitssymptome, welche sich in den 1933 in Clavadel bzw. Zürich neu infizierten Pflanzen zeigen?

Bei jeder der im Herbst 1932 abgeernteten 146 bzw. 185 Mutterstauden wurden daher im Frühjahr 1933 die Knollen für sich in zwei Häufchen von gleicher Anzahl und gleicher Knollengröße verteilt, die eine Hälfte wurde im Mai 1933 in Clavadel ausgepflanzt, die andere Hälfte in Brüttisellen bei Zürich, und zwar in der Weise, daß die Abkömmlinge jeder Knolle genau gekennzeichnet und wiedererkennbar waren. Überdies wurden die Knollen jeder Mutterstaude in absteigender Größe ausgepflanzt, erst die größte, dann die nächst kleinere usw., um zu verfolgen, ob eine Beziehung zwischen der Knollengröße und der Krank-

heitshäufigkeit bestehe; es sei gleich vorweggenommen, daß in unseren Versuchen eine derartige Beziehung nicht mit Sicherheit festgestellt werden konnte.

Die 146 Mutterstauden der Clavadeler Ernte des Jahres 1932 hatten 1048 verwendbare Knollen ergeben; von den je 524 ausgepflanzten Knollen gingen in Zürich im Jahre 1933 515 auf, in Clavadel wegen der Unbill der Witterung nur 438. Die 185 Mutterstauden der Züricher Ernte des Jahres 1932 hatten 1368 verwendbare Knollen ergeben; von den je 684 im Jahre 1933 ausgepflanzten Knollen gingen in Zürich 682 auf, in Clavadel nur 617. Der Gesundheitszustand der Felder wurde im Verlauf der Monate Juli und August 1933 je zweimal punktiert.

### 2. Beantwortung der Fragen.

a) Gibt es eine Genesung der 1932 schon kranken Pflanzen?

Betrachten wir die fünf 1932 als Mosaikquelle gepflanzten Stauden, so sehen wir, daß sie alle 1933 kranke Tochterfamilien hervorgebracht haben; von den Pflanzen, die aus 1932 durch Zusammenbindung teilweise krank gemachten Knollen in Clavadel hervorgegangen sind, schienen aber bei Besichtigung 1933 einige ganz, andere zum Teil genesen zu sein. Kritische Überlegung lehrt jedoch, daß es auch möglich ist, daß die Ansteckung in Clavadel so gering war, daß sie sich von den aus kranken Augen ausgewachsenen Stengeln nicht auf die aus gesunden Augen entwickelten Stengel hat verbreiten können. Da die gesunde Hälfte einen besseren Ertrag ergeben hat als die kranke, besteht ferner die Möglichkeit, daß nur die Knollen der ersteren Hälfte 1933 ausgepflanzt worden sind. Wir sind also nicht berechtigt zu schließen, daß 1932 in Clavadel eine Genesung stattgefunden hat.

b) Wieviel der 146 anfänglich gesunden Mutterstauden in Clavadel und der 185 entsprechenden Mutterstauden in Zürich sind im Laufe des Sommers 1932 durch das Virus der Mosaikkrankheit angesteckt worden?

Wie die Tabelle lehrt, war der Gesundheitszustand in Clavadel Mitte August 1933 derselbe wie Mitte Juli desselben Jahres. Weil von einer frischen Infektion nichts zu sehen war, rühren die hier beobachteten Krankheitsfälle nur aus den Mutterknollen her. Also gab es in Clavadel 1932 nur 17 der 1932 geernteten 146 Pflanzen, in welchen die Infektion noch zeitig genug stattgefunden hat, um die Knollen zu erreichen. Wahrscheinlich haben später noch mehr Infektionen stattgefunden, welche die Knollen nicht mehr zu erreichen vermochten.

Wie aus der Pflanzung 1933 in Clavadel weiter ersichtlich ist, gab es von den 1932 in Zürich gewachsenen Pflanzen 132, in welchen die Infektion bis in die geernteten Knollen gedrungen war. Auch hier muß es 1932 noch mehr Infektionen gegeben haben, von welchen aber die Knollen verschont geblieben sind.

## c) Wieviel Knollen dieser 146 bzw. 185 Mutterstauden tragen das Virus in sich?

In Tabelle 1 sind die Mutterstauden eingetragen, bei welchen 1 bis 25 % der Tochterknollen im Jahre 1933 Krankheitssymptome zeigten, daneben diejenigen, bei welchen 26—50 % der Tochterknollen Krankheitssymptome zeigten usw. Die Stärke der Durchseuchung der Mutterstauden ist abzulesen in den zwei Zeilen der Tabelle 1, welche sich auf die Besichtigung in Clavadel beziehen. Nicht nur die Zahl der angesteckten Mutterstauden ist also, wie in der Antwort auf Frage b) erörtert wurde, in Zürich erheblich größer als in Clavadel, sondern auch der Grad der Verseuchung ist bei den in Zürich geernteten Mutterstauden viel höher als bei den aus Clavadel stammenden Parallelen.

d) Rührt die Infektion, welche 1932 stattgefunden hat, nur aus den absichtlich gepflanzten Infektionsquellen her oder gibt es noch andere Ursachen der Erkrankung?

In allen Abbildungen sieht man die meisten Krankheitsfälle in denjenigen Tochterfamilien, deren Mutter sich 1932 unweit der absichtlich gepflanzten Infektionsquelle entwickelt hat; doch sind gewisse Unregelmäßigkeiten nicht zu verkennen. Auch fällt auf, daß an den Längsrändern des Feldes einige Infektionen stattgefunden haben. Möglich wäre es, daß diese verursacht wurden durch Besucher, die Blattläuse mit den Beinkleidern verschleppt haben. Eine andere Möglichkeit ist, daß es 1932 Infektionsquellen außerhalb der Versuchsfelder gegeben hat.

e) Wie stark sind die Krankheitssymptome, welche die Tochterindividuen zeigen, wenn man je die eine Hälfte der Knollen in Clavadel, die andere in Zürich auspflanzt?

Diese Frage ist zwar nicht genau zu beantworten, weil die Heftigkeit der Krankheitssymptome nicht auf die Herkunft aus den einzelnen Mutterstauden bezogen ist (Tabelle 2). Wohl kann man aus dem Umstand, daß bei Besichtigung im August die Heftigkeit der Symptome in Clavadel sowohl in der Nachzucht aus Clavadel wie auch in der Nachzucht aus Zürich sich als dieselbe erwiesen hatte wie im Juli, schließen, daß diese Symptome ein Ausdruck der Anwesenheit des Virus bzw. der Vira in den in Clavadel bzw. Zürich geernteten Mutterknollen sind.

Zur besseren Veranschaulichung ist in Abb. 6 eine photographische Aufnahme wiedergegeben, die wir einem Patienten der Züricher Heilstätte in Clavadel verdanken. Die in dieser Aufnahme erfaßten zwei Individuen, das zwerghafte Exemplar links und die kräftige Staude in

der Bildmitte und in der rechten Bildhälfte, sind Geschwister, nämlich Abkömmlinge der Mutterstaude Nr. 2 aus dem Züricher Versuchsfeld des Jahres 1932; das Individuum rechts ist vollkommen gesund, dasjenige links dagegen mit äußerster Heftigkeit erkrankt. Eine derartige Krankheitsheftigkeit, die zur Verkümmerung des betreffenden Individuums führt, haben wir in unseren Punktierungen als "stark erkrankt" protokolliert. Auch gibt es Kartoffelstauden, die mehr oder weniger erkrankt sind, also beispielsweise ein verhältnismäßig ansehnliches Kraut ent-



Abb. 6.

wickelten und dennoch unverkennbar die Symptome der Mosaikkrankheit erkennen ließen. Derartige Individuen wurden bei den Punktierungen als "schwach erkrankt" protokolliert.

Zur Erklärung der Tatsache, daß nicht nur eine ungleich häufigere Infektion 1932 in Zürich stattgefunden hat, sondern auch viel heftigere Krankheitssymptome in der Nachzucht beobachtet sind, reicht die Annahme, daß die Viruskonzentration in den in Zürich geernteten Knollen viel größer gewesen ist als in denen der Clavadeler Ernte, nicht aus. Es ist wahrscheinlich, daß ein zweites Virus von außen hinzugekommen ist, das in Zürich mehr verbreitet gewesen ist als in Clavadel. Denn, wie schon in der Einleitung hervorgehoben wurde, kann sich bei einer komplexen Infektion mit einem A- oder y-Virus und einem x-Virus eine Kräuselkrankheit entwickeln mit heftigeren Symptomen als denjenigen, welche die Vira jedes für sich hervorzurufen vermögen.

# f) Wie verbreitet sich die Krankheit weiter in Clavadel bzw. in Zürich 1933?

Wenn man die Abbildung 2 mit 3 oder 4 mit 5 vergleicht, sieht man, daß alle Tochterfamilien, welche in Zürich erkrankt sind, auch in Clavadel kranke Pflanzen enthalten; nur gibt es in Zürich mehr Krankheitsfälle.

Abgesehen von dieser Vermehrung ist die Übereinstimmung so vollständig, daß man geneigt ist, die Ausnahme der Tochterfamilie 37 auf Abb. 2. welche mit 38 auf Abb. 3 nicht übereinstimmt, einem Fehler zuzuschreiben. Über die Vermehrung in Zürich gibt die Tabelle weiteren Aufschluß. In jeder Gruppe von drei Horizontalspalten, sowohl derjenigen, welche sich auf die Nachzucht aus Clavadel als auch derjenigen, welche sich auf die Nachzucht aus Zürich beziehen, erkennt man von oben nach unten eine Zunahme der kranken Pflanzen auf Kosten der gesunden. Die Vermehrung findet nur statt in Zürich, gar nicht in Clavadel. Das kann nicht in erster Linie darauf zurückzuführen sein, daß es am erstgenannten Ort schon im Anfang der Wachstumsperiode ungleich viel mehr Infektionsquellen als am zweiten Ort gegeben hat; der Unterschied ist nämlich absolut, nicht relativ. Es kann nur erklärt werden aus der Klimawirkung, welche in Zürich für die Blattläuse günstiger gewesen sein muß, so daß sie wiederum, wie 1932, die Pflanzen in einem saftigen Zustand vorfanden, als sie im Hochsommer ihre virusverbreitende Wirkung ausübten. Das Höhenklima Clavadels kann 1933, ebensowenig wie 1932, günstig für die Entwicklung dieser Insekten gewesen sein; weder Mitte Juli noch Mitte August sieht man dort neue Infektionen.

g) Wie stark sind die Krankheitssymptome, welche sich in den 1933 in Clavadel bzw. Zürich neu infizierten Pflanzen zeigen?

Die erste von jeder der zwei Gruppen von drei Horizontalspalten in Tabelle 2 lehrt, daß die Symptome, welche sich im Anfang des Sommers in Clavadel zeigten, nicht von "schwach" zu "stark" verwandelt sind. Die übrigen Spalten der zwei Gruppen zeigen, daß in der Nachzucht aus Clavadel in Zürich nur die Zahl der schwach kranken Pflanzen sich auf Kosten der gesunden vermehrt hat (denn die Summe von 471 und 34 ist der Summe von 447 und 58 gleich), was auf Neuinfektion deutet. Die Zahl der stark kranken Pflanzen in der Clavadeler Nachzucht ist in Zürich dieselbe geblieben. Dasselbe kann gesagt werden von der Nachzucht aus Zürich: die Vermehrung der Zahl kranker Pflanzen hat auf Kosten der gesunden stattgefunden (denn die Summe von 241 und 89 ist ungefähr der Summe von 143 und 186 gleich); die stark kranken haben sich nicht vermehrt.

Man kann hieraus schließen, daß die Symptome, mit welchen die bis dahin gesunden Pflanzen auf Neuinfektion reagieren, nur diejenige eines schwachen Mosaiks sind. Man fragt sich aber noch, warum die stark kranken in der Nachzucht aus Clavadel in Clavadel von Anfang der Vegetation ab etwas weniger zahlreich sind als in Zürich; beruht der Unterschied zwischen 2 und 10 vielleicht auf dem Zufall, welcher bei der Verteilung der Knollen der 1932 geernteten Mutterstauden in zwei Häuf-

chen eine Rolle spielte? Aber wie erklärt es sich dann, daß ein so beträchtlicher Unterschied besteht zwischen den Zahlen der stark kranken Pflanzen, welche aus der Züricher Ernte in Clavadel und Zürich gewachsen sind? Wiederum tritt hier die Vermutung hervor, daß ein zweites Virus im Spiele gewesen ist, das in Kombination mit dem absichtlich für die Infektion verwendeten die starken Symptome verursacht hat. Sei dem wie ihm wolle, über unsichere Wahrscheinlichkeiten kommt man vorläufig nicht hinaus.

## III. Zusammenfassung.

Die in dieser Arbeit besprochenen Versuche wollten eigentlich nichts anderes sein als ein zahlenmäßiges Beispiel für die einschränkende Wirkung der Höhenklimate auf die Verbreitung einer der meist vorkommenden Mosaikkrankheiten der Kartoffeln. Es sind während der Untersuchung viele Fragen hervorgetreten. Die Versuche müssen erst mehrere Jahre hindurch und mit verschiedenen Vira und mit verschiedenen Kartoffelsorten wiederholt werden, um alle diese Fragen beantworten zu können und um eine zuverlässige Kenntnis des Einflusses des Höhenklimas auf den Gesundheitszustand und die Verseuchung durch Vira der Kartoffeln zu ermöglichen. Immerhin dürften die folgenden Fest- bzw. Fragestellungen besonders hervorgehoben werden.

- a) Die Mosaikkrankheit, welche man mit Kartoffeln in die Alpen einführt, bleibt dort bestehen und wird mit den Knollen fortgepflanzt. Eine Genesung ist nicht zu erwarten. Man soll daher vermeiden, verseuchtes Saatgut in noch krankheitsfreie Höhenlagen einzuführen. Speziell für die Höhenlagen, welche noch wenig verseucht sind, sollte man möglichst virusfreies Saatgut verwenden.
- b) Die Mosaikkrankheit wird auch auf einer Höhe von 1680 m ü. M. von kranken Pflanzen auf gesunde Nachbarn übertragen, jedoch in viel geringerem Maße als im Vorland (in einer Höhe von 455 m ü. M.), wo ein Gehalt von 10% kranker Pflanzen in einem Jahre zu einem fast ganz verseuchten Bestand führen kann, ohne daß eine allmähliche physiologische Schwächung daran Schuld hat.
- c) Die Zahl der kranken Töchter von auf einer Höhe von 1680 m ü. M. neu angesteckten Mutterpflanzen ist erheblich geringer als die Zahl der erkrankten Töchter von Pflanzen, welche auf einer Höhe von 455 m ü. M. angesteckt worden sind.
- d) Bei Wiederholung der Versuche soll genau geachtet werden auf eventuell in der Nähe der Versuchsfelder vorkommende Infektionsquellen.
- e) Nicht nur das gewöhnliche, schon fast überall in Europa vorhandene Mosaik, sondern auch ein sehr starkes, zu Verkrüppelung führendes Mosaik kann auf größeren Höhen in den Alpen bestehen.

Bei Wiederholung der Versuche soll darauf geachtet werden, ob diese starke Krankheit die Folge einer Mischinfektion ist; jedenfalls hat die Infektion dieses Mosaiks 1932 auf einer Höhe von 1680 m ü. M. in erheblich geringerem Maße stattgefunden als im Vorland.

- f) Das eingeführte Mosaik hatte sich Mitte Juli bis Mitte August 1933 auf einer Höhe von 1680 m ü. M. noch nicht durch Neuinfektion verbreitet, während es sich zu dieser Zeit im Vorland schon bedeutend verbreitet hatte.
- g) Die Symptome der Neuinfektion, welche sich zu dieser Zeit im Vorland zeigten, waren nur diejenigen des eingeführten schwachen Mosaiks.

#### IV. Literatur.

Im Text wurde von den zahlreichen Arbeiten über das hier behandelte Problem nur eine Auswahl gebracht. Für die betreffenden Arbeiten sei verwiesen auf die ausgezeichnete Bibliographie Atanasoffs, Sofia, Houdojnik Printing Company 1934. Nur die im Text, aber nicht in der genannten Bibliographie genannten Arbeiten sollen hier aufgeführt werden:

- Davies, W.H., Aphis survey; its bearing upon the selection of districts for seed potato production. Ann. Appl. Biol. 21, 2, 8, 283-299, May 1934.
- Ducomet, V. et Diehl, R., La culture de la pomme de terre en montagne et les maladies de dégenerescence. Compt. rend. hebd. de l'Acad. d'agriculture de France 20, 7, p. 228-238, 1934.
- Klapp, E., Scheinabbau, Modifikationen und Viruskrankheiten. Der Züchter, 6, Heft 8, S. 177-181, 1934.
- Martinet, G., Kartoffelanbauversuche im Jahre 1899. Landw. Jahrb. d. Schweiz, 1900. Des condition de préparation et de conservation des semenceaux de pommes de terre. Ann. agric. d. l. Suisse, 1914.
- Remy, Th., Eignen sich unreife Kartoffelknollen zu Pflanzzwecken? Ill. Landwirtsch. Ztg. 38, S. 149 und 158, 1918.
- Remy, Th., Handbuch des Kartoffelbaues. Zweite Auflage. Paul Parey, Berlin 1928.
- Verplancke, G., Etude comparative de pommes de terre d'origines diverses. III Resultats des expériences faites en 1933. Bull. de l'Inst. agronomique et de Stat. d. Rech. de Gembloux III, 1, 52—91, 1934.

# Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des botanischen Institute der Universität Tartu (Estland).

# Zur Physiologie der Kartoffel II. Ein Beitrag zur Diagnose abbaukranker Knollen.

Von

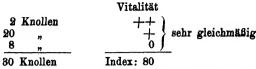
### Hugo Kaho.

Bechhold und Erbe (1) haben gefunden, daß bei der mehrstündigen Berührung des Knollengewebes mit metallischem Kupfer oder Nickel bei etwa 87°C das Auftreten dunkler Verfärbungen (Melanin) im Kartoffelgewebe begünstigt wird. Der Chemismus dieses Vorganges besteht in der Oxydation der Aminosäure Tyrosin durch den Luftsauerstoff mit Hilfe des Enzyms Tyrosinase. Es wird für wahrscheinlich gehalten, daß es sich um eine indirekte Katalyse handelt. Durch die Einwirkung des Metalls wird das im Gewebe vorgebildete inaktive Enzym Tyrosinase in den Berührungsstellen aktiviert ("frei gemacht"), dann diffundiert das Enzym im Gewebe weiter und ruft die Färbung an den Stellen hervor, welche das Metall nicht berühren. Der Bewegungsmechanismus des aktivierten Enzyms ist nach den genannten Autoren komplizierter als eine einfache Diffusion.

Auf Grund dieser Beobachtungen haben sie eine Methode — die Kupferprobe — für die Unterscheidung vitaler und abbaukranker Kartoffelknollen ausgearbeitet. Bezüglich der Einzelheiten sei auf die Originalarbeit hingewiesen. Die Kupferprobe als Diagnosemethode ist sehr praktisch und einfach. Als ich mit ihr bekannt wurde, stellte ich Versuche mit der estländischen Kartoffel an und erwartete die besten Resultate. Bekanntlich gehört Estland zu den Ländern, in welchen der Kartoffelabbau in sehr geringem Maße vorkommt (1 bis 8 %) und keine wirtschaftliche Bedeutung hat. Alle hier kultivierten Kartoffelsorten sind, was den Abbau betrifft, nach Angaben kompetenter Institute gesund. (Die Universitäts- und die Reichsversuchsstation zu Jögeva: Die Mosaikkrankheit kommt sehr selten vor, die Blattrollkrankheit fehlt gänzlich.)

Die Ergebnisse der Versuche erfüllten nicht gänzlich meine Erwartungen. Die betreffenden Indizes waren in vielen Fällen niedriger, als man das bei vollvitalen Knollen erwarten konnte. Es sefen hier einige Ergebnisse in kurzer Form angeführt.

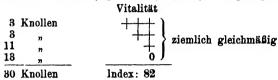
1. Väike verev, gesund, (Jõgeva)<sup>1</sup>). Kupferprobe nach Bechhold und Erbe:



Schnittfläche im Mittel: 11,5 cm2; mittleres Knollengewicht: 25,2 g.

Mittlere Fläche: 2,2. Index/Fläche: 86. Knollengewichte zwischen 15 und 39 g.

2. Odenwälder Blaue, gesund (Jogeva). Kupferprobe:



Schnittfläche im Mittel: 14,5 cm2; mittleres Knollengewicht: 82,5 g.

Mittlere Fläche: 2,2. Index/Fläche: 87. Knollengewichte zwischen 18 und 64 g.

3. Victoria, gesund (Jogeva). Kupferprobe:

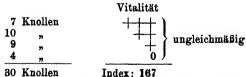


Schnittfläche im Mittel: 18,2 cm<sup>2</sup>; mittleres Knollengewicht: 53,8 g.

Index/Fläche: 91.

Knollengewichte zwischen 41 und 105 g.

4. Imperator, gesund (Jogeva). Kupferprobe:



Schnittfläche im Mittel: 17,2 cm3; mittleres Knollengewicht: 48,6 g.

Index/Fläche: 60.

Knollengewichte zwischen 14 und 71 g.

5. Early rose, gesund (Raadi)2). Kupferprobe:

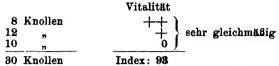
1 Knolle 17 Knollen 12 ,	++   sehr gleichmäßig	5
80 Knollen	Index: 63	

¹) Den Leitern der Versuchsstationen: Herrn Professor Dr. N. Roptsi (Universitätsversuchsstation zu Raadi) und Herrn J. Aamis epp (Station zu Jögeva) bin ich für das Versuchsmaterial zu bestem Dank verpflichtet.

<sup>2)</sup> Universitätsversuchsstation.

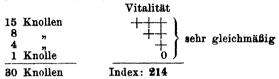
Schnittfläche im Mittel: 21,7 cm<sup>2</sup>; mittleres Knollengewicht: 63,8 g. Mittlere Fläche: 3. Index/Fläche: 21. Knollengewichte zwischen 40 und 157 g.

6. Maercker, gesund (Jogeva). Kupferprobe:



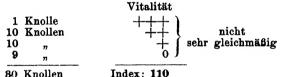
Schnittfläche im Mittel: 16,3 cm<sup>2</sup>; mittleres Knollengewicht: 45,6 g. Mittlere Fläche: 2,8. Index/Fläche: 33. Knollengewichte zwischen 31 und 81 g.

7. Hero, gesund (Jogeva). Kupferprobe:



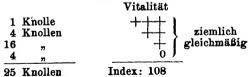
Schnittfläche im Mittel: 15,1 cm<sup>2</sup>; mittleres Knollengewicht: 42,7 g. Mittlere Fläche: 2,8. Index/Fläche: 71. Knollengewichte zwischen 37 und 63 g.

8. Deodara, gesund (Raadi). Kupferprobe:



Schnittfläche im Mittel: 16,7 cm<sup>3</sup>; mittleres Knollengewicht: 43,1 g. Mittlere Fläche: 2,6. Index/Fläche: 42. Knollengewichte zwischen 20 und 92 g.

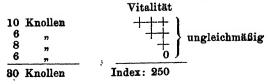
9. Majestic, gesund (Raadi). Kupferprobe:



Schnittfläche im Mittel: 200 cm<sup>2</sup>; mittleres Knollengewicht: 62,4 g. Mittlere Fläche: 3,1. Index/Fläche: 35.

Knollengewichte zwischen 27 und 90 g.

10. Allerfrüheste Gelbe, gesund (Raadi). Kupferprobe:



Schnittsläche im Mittel: 18,2 cm³; mittleres Knollengewicht: 51,9 g.

Mittlere Fläche: 2,9. Index/Fläche: 86. Knollengewichte zwischen 28 und 82 g.

11. Bravo, Abbau, Blattroller (Jogeva). Kupferprobe:

### Vitalität

Schnittfläche im Mittel: 7,0 cm3; mittleres Knollengewicht 15,5 g.

Mittlere Fläche: 2,2. Index/Fläche: 6. Knollengewichte zwischen 6 und 51 g.

12. Bravo, Abbau, Kräuseln (Jogeva). Kupferprobe:

#### Vitalität

Schnittfläche im Mittel: 12,6 cm2; mittleres Knollengewicht: 27,4 g.

Mittlere Fläche: 2,2. Index/Fläche: 9. Knollengewichte zwischen 19 und 36 g.

13. Imperator, Abbau, Blattroller (Jogeva). Kupferprobe:

Schnittfläche im Mittel: 10,3 cm2; mittleres Knollengewicht: 29,6 g.

Mittlere Fläche: 2,9. Index/Fläche: 6.

Knollengewichte zwischen 19 und 59 g.

Bei den untersuchten Sorten besteht kein Zusammenhang zwischen Knollengewicht und Vitalität.

Tabelle 1. Zusammenstellung.

	Sorte	Gesundheit nach Angabe von Feld- versuchen	Index	Index/ Fläche
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 18	Väike verev Odenwälder Blaue Victoria Imperator Early rose Maercker Hero Deodara Majestic Allerfrüheste Gelbe Bravo II Imperator	gesund  " " " " " Abbau " "	80 82 273 167 68 93 214 110 108 250 18	36 37 91 60 21 33 71 42 35 86 6

Aus dieser Zusammenstellung sieht man, daß die Indizes und die Quotienten Index/Fläche bei den gesunden Knollen sehr stark variieren,

sie können bei einer Sorte zweimal, in einigen Fällen drei- bis viermal größer sein als bei der anderen. Auf Grund von Feldversuchen sind die Sorten mit Index/Fläche zwischen 60 bis 90 nicht in größerem Maße vital als die mit 30 bis 40. Sie geben auch keine höheren Erträge und unterscheiden sich auch nicht durch andere Eigenschaften und Vorzüge. Bei den von Bechhold und Erbe (l. c.) untersuchten Kartoffelsorten haben die gesunden Knollen ziemlich gleiche Quotienten (59 bis 67); so große Unterschiede wie bei den oben angeführten Sorten kamen nicht vor. Nur bei den abbaukranken Knollen sind die die Vitalität zeigenden Zahlen in beiden Fällen ziemlich übereinstimmend.

Im allgemeinen ist das Hervortreten der Verfärbungen durch die Einwirkung von Kupferblechen bei der estländischen Kartoffel schwach. Dieses kann in keiner Weise durch die Versuchsanordnung bedingt sein, da sehr genau an der von Bechhold und Erbe angegebenen Methodik festgehalten wurde.

Wenn man die Ergebnisse der Kupferprobe bei den gesunden Sorten so verteilt, daß auf einer Seite die Knollen mit zwei und drei Kreuzen, auf der anderen die mit einem Kreuz und Null sind, so ergibt sich im Mittel  $40\,^{\rm o}/_{\rm o}$  und  $60\,^{\rm o}/_{\rm o}$  der untersuchten Knollen. Die von Bechhold und Erbe (l. c.) angeführten gesunden Sorten ergeben das umgekehrte Verhältnis: für zwei und drei Kreuze etwa  $60\,^{\rm o}/_{\rm o}$  und für Kreuz und Null etwa  $40\,^{\rm o}/_{\rm o}$ .

Die schwächere Verfärbung vollvitaler estländischer Kartoffeln durch Kupferblech weist darauf hin, daß ökologische und klimatische Verhältnisse in Estland, welches bekanntlich ein gutes Kartoffelland ist, die Bildung des Melanins nicht in dem Maße begünstigen, wie dieses bei dem Versuchsmaterial von Bechhold und Erbe der Fall ist. Nach anderen Beobachtungen ist die Verfärbung durch Kupfer bei verschiedenen Sorten auch ziemlich individuell. Gewisse Sorten ergeben immer pechschwarze Verfärbungen, unabhängig davon, ob die verfärbte Zone breit oder ganz schmal ist, andere witale Sorten ergeben graue Farbtöne.

Da die Kupferprobe bei den vollvitalen estländischen Kartoffelsorten etwas zu variable Resultate ergab, so war ich bestrebt, noch ein anderes Unterscheidungsmittel zwischen Vital- und Abbauknollen ausfindig zu machen. Ein solches könnte auf dem Oxydations- und Reduktionsvermögen des Knollengewebes basieren, da diese wichtigsten physiologischen Prozesse bei vitalen und abbaukranken Knollen mit verschiedener Geschwindigkeit verlaufen müssen. Es galt, einen Stoff zu finden, bei welchen diese beiden Prozesse — Oxydation und Reduktion — in Kontakt mit dem Knollengewebe resp. dem Knollensaft leicht nachzuweisen seien. Ein solcher Stoff ist Guajakharz.

Schneidet man mit einem Hornmesser eine Kartoffelknolle in dünne Scheiben und benetzt sie mit alkoholischer Guajakharzlösung, so sieht man, daß bald eine Bläuung der Schnittfläche eintritt. Sie beruht auf der Oxydation der Guajaklösung.

Nach E. Schmidt (4) reagiert die alkoholische Guajaklösung schwach sauer. Durch die Einwirkung von Eisenchlorid, salpetriger Säure und anderen Oxydationsmitteln färbt sich die Guajaklösung intensiv blau. Das Guajakharz enthält nach verschiedenen Autoren 70,3% og Guajakonsäure, welche sich leicht in  $\alpha$ -Guajakon-(C<sub>22</sub> H<sub>26</sub> O<sub>6</sub>) und in  $\beta$ -Guajakonsäure zerlegen läßt. Durch Oxydationsmittel wird nur  $\alpha$ -Guajakonsäure blau gefärbt, es bildet sich Guajakblau (C<sub>23</sub> H<sub>24</sub> O<sub>9</sub>), ein blaues leicht zersetzbares Pulver. Außerdem enthält das Guajakharz noch 10,5% Guajakharzsäure, 9,8% og Guajacinsäure, 3,7% Gummi, sowie geringe Mengen von Guajakgelb, Guajacylsäure, Guajaköl und Aschenbestandteilen.

Die Rindenschicht der Knolle bläut in der Regel etwas schneller, und der Farbenton ist tiefer als der der inneren Teile. Beim Stehen wird das Guajakblau etwas reduziert und der Farbenton heller. Die Reduktion kann aber bei Anwesenheit von Luftsauerstoff nicht weit gehen. Nimmt man statt Gewebestücke Knollenauszug und versetzt denselben mit etwas Guajaklösung, so wird sie zuerst oxydiert, die Lösung wird intensiv blau, bald tritt aber die Reduktion ein und die blaue Farbe verschwindet allmählich wieder. Es ist ein ausgesprochener Zusammenhang zwischen der Vitalität der Kartoffel und der Geschwindigkeit der Guajakreduktion: die Reduktionszeit ist bei vitalen Knollen bedeutend kürzer als bei abbaukranken Knollen.

Die interessanten Oxydations- und Reduktionsversuche von Boas und Merkenschlager¹) mit verschiedenen chemischen Verbindungen (Chinin-, Hydrochinon-, Phenol-, Benzidinprobe; die Reduktionsprobe mit Methylenblau, Na-selenit, K-permanganat) haben gezeigt, daß Vitalknollen die Tendenz zu größerer Oxydationsgeschwindigkeit besitzen, eine Tatsache, die ich bei den Knollen gegenüber der Guajakharzlösung gefunden zu haben glaubte. Bei näherer Untersuchung fand ich zahlreiche Ausnahmen, bei welchen zwischen dem Oxydationsvermögen der Vital- und Abbauknollen kein Unterschied war. In ihrer umfangreichen Studie über die Kolloidstruktur der Kartoffelknolle fanden Bechhold und Erbe (1), daß die Methylenblaulösung vom Kartoffelgewebe "fast oder völlig" reduziert wurde. "Die hier beobachteten Schwankungen im Reduktionsvermögen gegenüber Methylenblau stehen in keinem ersichtlichen Zusammenhang mit dem Gesundheitszustand der Knollen, wie er aus Pflanzenversuchen ermittelt wird."

Wenn man die Reduktion eines Farbstoffes im Knollenauszug beobachtet, anstatt die Versuche in Bohrschächten der Knollen durchzuführen, so habe ich in diesem Falle einen besseren Zusammenhang zwischen dem Reduktionsvermögen und dem Gesundheitszustand der Knollen feststellen können. Das Gesagte bezieht sich auf Chlor- und Bromphenolindophenol, insbesondere auf den letzteren Farbstoff. Die Versuche zeigen, wie schon Bechhold und Erbeerwähnen, daß alle Knollen Methylenblau reduzieren. Nach meinen Beobachtungen reduzieren die Vitalknollen die Farbstoffe im allgemeinen schneller als die Abbauknollen, der Unterschied besteht nur in der Reduktionsgeschwindigkeit. In genügend langer Zeit werden die Farbstoffe auch durch Abbauknollen vollständig reduziert. Deswegen bietet die Beobachtung der Reduktion eines Farbstoffes im Knollenauszug gewisse Vorteile, man kann das Verschwinden bzw. die Veränderung der Farbe während der ganzen Zeit leicht verfolgen.

<sup>1)</sup> Zit. nach Marx und Merkenschlager (3).

### Die Guajakprobe als Diagnosemittel für Vital- und Abbauknollen.

Die Knollen wurden mit einem Hornmesser dünn geschält und Stücke mit der Rindenschicht zu 15 g ausgeschnitten. Nach dem Zerreiben auf einer Aluminiumreibe wurde der Gewebebrei in einem Porzellanmörser mit 15 cm<sup>8</sup> Wasser versetzt und gut durchgequetscht<sup>1</sup>). Nach Filtrieren wurde zu 2 cm<sup>8</sup> Filtrat <sup>1</sup>/<sub>2</sub> cm<sup>8</sup> <sup>8</sup>/<sub>4</sub> <sup>0</sup>/<sub>0</sub> iger alkoholischer Guajaklösung<sup>2</sup>) zugesetzt, etwas durchgeschüttelt und stehen gelassen.

Es begann sofort eine Bläuung der Lösung; sie hatte in der Mehrzahl der Fälle folgende Töne: zuerst schwach grünlich-blau, dann hellblau, schließlich blau und zuletzt indigo. Kurz darauf begann die Reduktion des Guajakblaus. Die 2 bis 3 mm dicke Oberschicht der Lösung behielt ihre tiefblaue Färbung, die darunterliegende Lösung wurde etwas heller. Das war der äußerlich sichtbare Beginn der Reduktion. Allmählich bekam die Lösung einen grünlichen Ton, welcher bald in gelb umschlug. Ende der Reduktion war die Lösung strohgelb, etwa wie ein Xantophyllauszug. Es besteht kein direkter Zusammenhang zwischen der Oxydation der Guajaklösung und der Vitalität der Knollen. Die tiefste Blänungsstufe wurde bei Vital- und der größten Zahl Abbauknollen ungefähr nach gleicher Zeit erreicht, nach etwa drei bis fünf Minuten, selten nach längerer Zeit. In einigen Fällen ging die Oxydation bei den abbaukranken Knollen etwas langsamer. Die Zeit der nachherigen Reduktion ist sehr verschieden. Sie ist bei verschiedenen Sorten etwas individuell und schwankt bei Vitalknollen durchschnittlich zwischen 10 und 20 Minuten. Bei den Abbauknollen ist sie bedeutend länger, eine bis zwei Stunden.

Es ist unmöglich, den wirklichen Beginn der Reduktion zu beobachten. Sie kann schon stattfinden, wenn die Lösung noch tiefblau und äußerlich noch nichts zu bemerken ist. Die äußerlich sichtbare Veränderung der Färbung ist nicht der tatsächliche Beginn, sondern eine partielle Reduktion. Es wurde deswegen die Dauer der Reduktion und die der vorangehenden Oxydation der Guajaklösung zusammen gemessen. Zugleich mit dem Durchschütteln des Auszuges mit Guajak wurde eine Stoppuhr angeknipst und die Zeit bis zum Verschwinden des grünlichen Farbtones der Lösung gemessen. Diese Zeit nenne ich die Reduktionszeit der Guajaklösung. Tatsächlich besteht diese "Reduktionszeit" aus der Oxydationszeit und dem größten Teil der Reduktionszeit. Es wurde nicht abgewartet, bis die Lösung strohgelb wurde, die letzten Momente der Reduktion gehen sehr langsam vor sich, und es ist schwierig, den eigentlichen Endpunkt der

<sup>1)</sup> Leichtere Knollenstücke wurden mit der Wassermenge entsprechend dem Gewichte der Stücke ausgezogen (z. B. 5 g Kartoffel mit 5 cm² Wasser usw.).

<sup>2)</sup> Die Stücke des Guajakharzes wurden zu Pulver zerrieben, in 97 % Äthylalkohol aufgelöst und die Lösung filtriert. Die Lösung wurde fast jeden Tag frisch hergestellt. Es war kein Unterschied im Verhalten des Knollenauszuges gegen verschiedene Guajakpräparate zu bemerken.

Reduktion zu beobachten. Dieses würde einen nicht unbeträchtlichen Fehler in die Messung der Reduktionszeit bringen. Es wurde deswegen bedingungsweise als das Ende der Reduktion der Umschlag des grünen Farbtones in den gelblichen angenommen. Alle unten angeführten Reduktionszeiten sind in der beschriebenen Weise gewonnen.

Es erübrigt sich, die Reduktion unter Abschluß von Sauerstoff durchzuführen. Es genügt, wenn die Versuche in dünnen Probegläsern vorgenommen werden. Am besten eignen sich Probegläser, die einen äußeren Durchmesser von etwa 1,5 cm haben. Während der Reduktion müssen die Proben unberührt stehen, um nicht die für Sauerstoff undurchlässige Oberschicht der Lösung zu unterbrechen. Schüttelt man nach der Reduktion die gelbe Lösung noch einmal durch, so tritt wieder eine Bläuung ein und eine nochmalige Reduktion, die aber länger dauert. Durch Zusetzen eines Tropfens von 3 % igem Wasserstoffsuperoxyd kann man bei Proben, die mit Guajak schon einige Tage gestanden haben und mißfarbig geworden sind, eine tiefblaue Färbung hervorrufen. Es folgt dann aber keine Reduktion.

Nachstehend sind einige Beispiele angeführt.

Versuch 1.

Oden wälder Blaue (gesund, 31 g), 2 ccm Auszug + 0,5 ccm Guajak. Nach dem Durchschütteln die Färbung unverändert, nach 3 Minuten tiefblau, nach 6 Minuten der sichtbare Beginn der Reduktion, nach 15 Minuten das "Ende" der Reduktion (Verschwinden des grünlichen Farbtones und Umschlag in den gelben); nach 19 Minuten strohgelb (das wirkliche Ende der Reduktion).

Versuch 2.

Victoria (gesund, 44 g). 2 ccm Auszug + 0,5 ccm Guajak. Gleich nach dem Durchschütteln unverändert, nach 3 Minuten tiefblau, nach 7 Minuten der sichtbare Beginn der Reduktion, nach 19 Minuten das "Ende" der Reduktion, nach 22 Minuten strohgelb. Versuch 3.

Bravo (Abbau, 23 g). 2 ccm Auszug + 0,5 ccm Guajak. Gleich nach dem Durchschütteln unverändert, nach 4 Minuten Ausflockung des Kartoffeleiweißes, nach 10 Minuten tiefblau, nach 50 Minuten der sichtbare Beginn der Reduktion, nach 70 Minuten das "Ende" der Reduktion, nach 81 Minuten strohgelb.

Die Reduktionszeiten bei den angeführten Versuchen sind wie folgt: Bei der Odenwälder Blauen . . . — 15 Minuten

Diese Beispiele zeigen, daß die Oxydation — Reduktion bei der Abbauknolle Bravo bedeutend langsamer vor sich geht als bei den gesunden Knollen. Es ist noch von Interesse, daß bald nach dem Versetzen des Auszuges der Abbauknolle mit der Guajaklösung das Kartoffeleiweiß ausfällt. Wie aus einer meiner Mitteilungen¹) hervorgeht, haben abbaukranke Knollen durchschnittlich weniger stabiles (weniger ionisiertes) Reserveeiweiß, und es wird durch die Alkohollösung leichter ausgeflockt.

<sup>1)</sup> Das Verhalten der Eiweißstoffe gesunder und abbaukranker Kartoffelknollen gegen Salze. Acta et Comm. Univ. Tartuensis. A XXIX, 1985.

Auf die Oxydation und Reduktion des Guajaks hat die Eiweißkoagulation keinen merklichen Einfluß. Außer den Abbauknollen kommt sie ab und zu auch bei den Vitalknollen vor und ist kein ausschließliches Unterscheidungsmerkmal für die ersteren.

Es ist leicht, mehrere Reduktionsproben gleichzeitig auch mit einer Stoppuhr anzustellen. Läßt man die Guajaklösung aus einer Pipette längs der Probierglaswand auf den Auszug herabfließen, so mischt sich die Alkohollösung nicht mit dem Auszug, sondern bleibt als eine dünne Schicht oben. Hat man in dieser Weise mehrere Probiergläser mit Guajak beschickt, so kann man sie leicht gleichzeitig oder fast gleichzeitig durchschütteln und die Stoppuhr anknipsen. Ein Fehler von zirka 5 bis 10 Sekunden spielt keine Rolle.

Nachstehend sind die Guajak-Reduktionszeiten derselben Kartoffelsorten angeführt, mit welchen die Kupferprobe ausgeführt wurde. Bei allen Versuchen wurden 2 ccm Auszug + ½ ccm ³/4 °/0 iges Guajak genommen. Die Temperatur im Laboratorium schwankte zwischen 18° und 20° C.

1. Väike verev, gesund (Jogeva und Raadi)1).

Guajak-Reduktionszeiten:

- Bei 2 Knollen weniger als 5 Minuten: 2,5', 4,5'.
- Bei 9 Knollen von 5 bis 10 Minuten: 9', 8', 9', 8', 6', 10', 6,5', 10', 8'.
- Bei 7 Knollen von 10 bis 20 Minuten: 12', 20', 16', 20', 14', 17', 13'.
- Bei 2 Knollen mehr als 20 Minuten: 21', 33'.
- Bei 20 Knollen mittlere Reduktionszeit 12 Minuten.

Mittleres Knollengewicht 23 g; Knollengewichte zwischen 15 und 32 g.

2. Victoria, gesund (Jogeva und Raadi).

Guajak-Reduktionszeiten:

- Bei 2 Knollen weniger als 5 Minuten: 1,5', 4'.
- Bei 7 Knollen von 5 bis 10 Minuten: 7', 9', 6', 10', 9', 10', 10'.
- Bei 8 Knollen von 10 bis 20 Minuten: 19', 11', 15', 14', 12', 14', 15', 14'.
- Bei 3 Knollen mehr als 20 Minuten: 22', 35', 25'.
- Bei 20 Knollen mittlere Reduktionszeit 13 Minuten.

Mittleres Knollengewicht 59 g: Knollengewichte zwischen 31 und 71 g.

3. Oden walder Blaue, gesund (Jogeva und Raadi).

Guajak-Reduktionszeiten:

- Bei 4 Knollen weniger als 10 Minuten: 7', 10', 9,5', 10'.
- Bei 8 Knollen von 10 bis 20 Minuten: 15', 16', 14', 15', 16', 13', 18', 16'.
- Bei 6 Knollen von 20 bis 30 Minuten: 22', 21', 28'. 23', 22', 26'.
- Bei 2 Knollen mehr als 30 Minuten: 35', 42'.
- Bei 20 Knollen mittlere Reduktionszeit 19 Minuten.

Mittleres Knollengewicht 32 g; Knollengewichte zwischen 15 und 65 g.

4. Imperator, gesund (Jogeva).

Guajak-Reduktionszeiten:

- Bei 3 Knollen weniger als 5 Minuten: 4,5', 2', 3,5'.
- Bei 7 Knollen von 5 bis 10 Minuten: 9', 5', 5', 4', 9', 7,5', 9'.
- Bei 7 Knollen von 10 bis 20 Minuten: 16', 11', 14', 11', 12', 15', 12'.
- Bei 3 Knollen mehr als 20 Minuten: 25', 23', 27'.
- Bei 20 Knollen mittlere Reduktionszeit 11 Minuten.

Mittleres Knollengewicht 46 g; Knollengewichte zwischen 86 und 71 g.

<sup>1)</sup> Hier und in einigen anderen Fällen, wo das angegeben ist, stammt das Versuchsmaterial aus zwei Orten, je 10 Knollen. Die Knollen wiesen keine Unterschiede auf.

5. Maercker, gesund (Jogeva).

Gusjak-Reduktionszeiten:

- Bei 8 Knollen weniger als 10 Minuten: 6', 5', 4'.
- Bei 10 Knollen von 10 bis 20 Minuten: 15', 20', 12', 15', 14', 11,5', 14', 16', 18', 14'.
- Bei 5 Knollen von 20 bis 80 Minuten: 29', 30', 25', 21', 28'.
- Bei 2 Knollen mehr als 80 Minuten: 82', 85'.
- Bei 20 Knollen mittlere Reduktionszeit 18 Minuten.

Mittleres Knollengewicht 45 g; Knollengewichte zwischen 88 und 98 g.

6. Hero, gesund (Jogeva).

Guajak-Reduktionszeiten:

- Bei 3 Knollen weniger als 10 Minuten: 8', 6', 4'.
- Bei 12 Knollen von 10 bis 20 Minuten: 20', 10', 15', 12', 20', 17', 20', 15', 14', 11', 15', 20'.
- Bei 4 Knollen von 20 bis 30 Minuten: 21', 30', 24', 25'.
- Bei 1 Knolle mehr als 30 Minuten: 37'.
- Bei 20 Knollen mittlere Reduktionszeit 16 Minuten.

Mittleres Knollengewicht 45 g; Knollengewichte zwischen 28 und 63 g.

7. Deodara, gesund (Raadi).

Guajak-Reduktionszeiten:

- Bei 1 Knolle weniger als 10 Minuten: 8'.
- Bei 7 Knollen von 10 bis 20 Minuten: 15', 11', 14', 19', 12', 11', 14'.
- Bei 9 Knollen von 20 bis 30 Minuten: 24', 25', 25', 22', 23', 25', 21', 23', 21'.
- Bei 3 Knollen mehr als 30 Minuten: 41', 40', 42'.
- Bei 20 Knollen mittlere Reduktionszeit 22 Minuten.

Mittleres Knollengewicht 49 g: Knollengewichte zwischen 35 und 92 g.

8. Majestic, gesund (Raadi).

Guajak-Reduktionszeiten:

- Bei 4 Knollen weniger als 10 Minuten: 3', 3,5', 1,5', 5'.
- Bei 9 Knollen von 10 bis 20 Minuten: 11', 16,5', 13', 17', 15', 14', 16', 12', 17'.
- Bei 4 Knollen von 20 bis 30 Minuten: 29', 25', 30', 23'.
- Bei 3 Knollen mehr als 30 Minuten: 35', 32', 38'.
- Bei 20 Knollen mittlere Reduktionszeit 18 Minuten.

Mittleres Knollengewicht 62 g; Knollengewichte zwischen 27 und 97 g.

9. Allerfrüheste Gelbe, gesund (Raadi).

Guajak-Reduktionszeiten:

- Bei 1 Knolle weniger als 10 Minuten: 3'.
- Bei 10 Knollen von 10 bis 20 Minuten: 19', 18', 19', 20', 20', 17', 20', 15', 16', 12'.
- Bei 6 Knollen von 20 bis 30 Minuten: 25', 23', 29', 21', 24', 25'.
- Bei 3 Knollen mehr als 30 Minuten: 40', 31', 40'.
- Bei 20 Knollen mittlere Reduktionszeit 22 Minuten.

Mittleres Knollengewicht 66 g; Knollengewichte zwischen 37 und 92 g.

10. Bravo I, Abbau, Blattroller (Jogeva).

Guajak-Reduktionszeiten:

- Bei 5 Knollen von 40 bis 60 Minuten: 60', 55', 40', 60', 44'.
- Bei 2 Knollen von 60 bis 80 Minuten: 75', 80'.
- Bei 3 Knollen von 80 bis 100 Minuten: 95', 88', 83'.
- Bei 5 Knollen mehr als 100 Minuten: 180', 115', 135', 120', 186'.
- Bei 15 Knollen mittlere Reduktionszeit 88 Minuten.

Mittleres Knollengewicht 19 g; Knollengewichte zwischen 6 und 51 g.

### 11. Bravo II, Abbau, Blattkräuseln (Jögeva).

Guajak-Reduktionszeiten:

- Bei 2 Knollen weniger als 60 Minuten: 81', 41'.
- Bei & Enollen von 60 bis 80 Minuten: 70', 62', 60'.
- Bei 8 Knollen von 80 bis 100 Minuten: 85', 90', 85'.
- Bei 2 Knollen mehr als 100 Minuten: 140', 145',
- Bei 10 Knollen mittlere Reduktionszeit 81 Minuten.

Mittleres Knollengewicht 21 g; Knollengewichte zwischen 18 und 36 g.

### 12. Imperator, Abbau, Blattroller (Jogeva).

Guajak-Reduktionszeiten:

- Bei 1 Knolle weniger als 60 Minuten: 85'.
- Bei 4 Knollen von 60 bis 90 Minuten: 60', 70', 75', 70'.
- Bei 1 Knolle von 90 bis 120 Minuten: 110'.
- Bei 2 Knollen mehr als 120 Minuten: 140'. 150'.
- Bei 8 Knollen mittlere Reduktionszeit 89 Minuten.

Mittleres Knollengewicht 20 g; Knollengewichte zwischen 18 und 54 g.

Tabelle 2. Zusammenstellung.

	Sorte	Guajak- Reduktionszeit in Minuten	Kupferprobe, Index/Fläche
1	Väike verev, gesund	12	36
2	Victoria, gesund		91
3 3	Odenwälder Blaue, gesund	19	37
<b>4</b> 5	Imperator, gesund	11	60
5	Maercker, gesund	18	33
6	Hero, gesund	16	71
7	Hero, gesund	22	42
8 9	Majestic, gesund	18	35
9	Majestic, gesund	22	86
10	Bravo I, Abbau	88	6
11	Bravo II, Abbau	81	9
12	Imperator, Abbau	89	6

Die Durchschnittswerte der Reduktionszeiten sind fast für jede untersuchte Sorte etwas verschieden und haben eine maximale Variationsbreite von ungefähr zehn Minuten. Bei allen gesunden Knollen zeigen die Reduktionszeiten (in Minuten) als biologische Größen eine ziemlich typische Zufallskurve, die bei einer größeren Zahl von Bestimmungen besser hervortreten würde. Bei einigen Sorten geht die Reduktion schneller (vgl. Nr. 1, 2, 4 der Tabelle 2), bei anderen etwas langsamer (Nr. 5, 7, 8, 9) vor sich.

Zwischen der Vitalgruppe (Nr. 1—9) und der Abbaugruppe (Nr. 10—12) ist die Differenz der Reduktionsgeschwindigkeit, wie die Daten zeigen, sehr groß und scharf abgegrenzt. Es scheint mir daher sehr wahrscheinlich, daß zwischen der Oxydations-Reduktionsgeschwindigkeit der Guajaklösung und der Vitalität der Knollen ein direkter Zusammenhang besteht. Alle diesbezüglichen Erfahrungen haben das ganz eindeutig

bestätigt. In Abhängigkeit vom Guajak-Reduktionsvermögen lassen sich drei Gruppen von Knollen aufstellen: 1. eine Vitalgruppe mit der mittleren Reduktionszeit von etwa 10 bis 30 Minuten (gesunde Knollen); 2. eine Übergangsgruppe mit der mittleren Reduktionszeit von etwa 30 bis 50 Minuten (teilweiser oder schwacher Abbau); 3. eine Abbaugruppe mit einer Reduktionszeit von etwa 50 Minuten bis 2 Stunden und mehr (gänzlicher Abbau). Diese Reduktionswerte können bei gegebener Versuchsanordnung für Estland oder für Länder mit ähnlichen Klimaund Bodenverhältnissen maßgebend sein. Es ist aber sehr leicht, mit dieser Methodik die Reduktionswerte für ein beliebiges Land festzustellen.

Mit der Kupferprobe ist ein Zusammenhang zwischen den beiden wichtigsten Gruppen — der Vitalgruppe und der Abbaugruppe — vorhanden. Die Abbauknollen mit Quotienten Index/Fläche bis 10 (unter Umständen vielleicht auch etwas mehr) ergaben immer die Reduktionszeiten der Abbaugruppe.

Bei vitalen Knollen besteht zwischen den Zahlen der Kupferprobe und der Reduktionsgeschwindigkeit des Guajaks kein sichtbarer Zusammenhang.

Man könnte aber zwischen den von Hey (2) gefundenen Knollenpotentialen und der Reduktionsgeschwindigkeit des Guajaks engere Beziehungen erwarten. Ein Vergleich der mit beiden Methoden erhaltenen
Resultate wäre sehr erwünscht. Ich konnte das nicht ausführen, da ich
nur über eine beschränkte Menge von Abbauknollen verfügte, weil in Estland abbaukranke Knollen selten zu finden sind.

Was die Guajak-Oxydation-Reduktion betrifft, so scheint es mir, daß Guajak als Sauerstoffüberträger fungiert. Es wird im Auszug bei Einwirkung von Oxydasen oxydiert, indem es den gelösten Sauerstoff an sich bindet. In dieser Weise gebundener Sauerstoff wird dann an andere Verbindungen übergeben und das Guajak wird reduziert. Bringt man reduziertes Guajak nochmals in Kontakt mit dem Luftsauerstoff mittels Durchschütteln des gelbgewordenen Auszuges, so bildet sich wieder Guajakblau, welches zum zweitenmal reduziert wird, eine Tatsache, die auf die Sauerstoffübertragung hinweist. Eine wiederholte Reduktion geht immer langsamer vor sich als die erste. Die beschriebene Guajak-Reduktion scheint ein komplizierter Vorgang zu sein, da die Reduktionsgeschwindigkeit sich auch mit dem Stehen des Auszuges verändert. Stellt man die Proben sofort nach der Herstellung des Auszuges an, so geht die Reduktion etwas langsamer vor sich, als wenn der Auszug eine halbe Stunde gestanden hat1). Beim Stehen gehen im Knollenauszug ununterbrochen Veränderungen vor sich, die sich in Verfärbung der Lösung kennzeichnen. Um die Ergebnisse der Versuche dadurch nicht beeinflussen zu lassen, wurden die Oxydations-Reduktionsproben immer in derselben Zeit nach

<sup>1)</sup> Näheres darüber wird in einer folgenden Mitteilung berichtet.

der Herstellung des Auszuges angestellt. Die Herstellung des Knollenextraktes nahm jedesmal ungefähr 10 Minuten in Anspruch, worauf dann sofort die Reduktionsproben angestellt wurden. Auf eine Zeitdifferenz von etwa 5 Minuten kommt es nicht an.

Ich möchte zum Schluß hervorheben, daß die Guajakprobe erst bei Nachprüfung an großem Material endgültigen Wert gewinnen würde. Die bisherigen Ergebnisse zeigten einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Oxydations-Reduktionsgeschwindigkeit und dem Gesundheitszustand der Knollen. Es kamen einige Ausnahmen vor, wo das angeblich abbaukranke Material ganz normale Reduktionszeiten ergab. In diesen Fällen handelte es sich um eine direkte (sichtbare) Infektion der Knollen, wahrscheinlich auch der Pflanzen, die Abbausymptome vortäuschten.

#### Literatur.

- 1. Bechhold, H. und Erbe, F., 1982. Zur Biologie der Kartoffel. XVI. Mitteilung, A. d. B. R. A. 20.
- 2. Hey, A., 1932. Zur Biologie der Kartoffel. XIV. Mitteilung. A. d. B. R. A. 20.
- Marx, Th. und Merkenschlager, F., 1982. Zur Biologie der Kartoffel. XII. Mitteilung. A. d. B. R. A. 19.
- 4. Schmidt, E., Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie. II. Band. 1923.

# Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Landwirtschaftlichen Hochschule Bonn-Poppelsdorf.

Untersuchungen über das Verhalten sogenannter nicht eisbeständiger Kulturpflanzen bei niederen Temperaturen, unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses verschiedener Mineralsalzernährung und des N-Stoffwechsels.

Von

A. F. Wilhelm.

Mit 2 Textabbildungen.

### Einleitung.

Die vor kurzem veröffentlichten Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung auf die Kälteresistenz von Getreide-, Tomaten- und Kartoffelpflanzen (Schaffnit und Wilhelm, 9) wurden in den zwei vergangenen Wintern fortgesetzt und in verschiedener Hinsicht ergänzt und erweitert. Über die an winterfesten Pflanzen, Getreide, Raps und Spinat gewonnenen Ergebnisse wird in einer besonderen Mitteilung (diese Zeitschrift; Bd. 8, Heft 2) berichtet. In dieser Arbeit sind die mit sog. nicht eisbeständigen Pflanzen, Bohnen, Tabak und Tomaten ausgeführten Versuche zusammengestellt.

Die Abtrennung dieser Versuche von denen mit winterfesten Pflanzen ist, abgesehen von dem unterschiedlichen Verhalten der zwei Pflanzengruppen gegenüber Eisbildung, auch deshalb berechtigt, weil Bohnen, Tabak und Tomaten bei knapp über 0° gelegenen Temperaturen erkranken und allmählich absterben, während winterfeste Pflanzen unter den nämlichen Bedingungen nicht nur keine Schädigung erkennen lassen, sondern im Gegenteil eine Steigerung ihrer Widerstandsfähigkeit gegen tiefere Temperaturen erfahren.

Die früheren Untersuchungen hatten ergeben, daß die Gefriertemperatur verschieden ernährter Kartoffel- und Tomatenpflanzen von der Höhe des osmotischen Wertes abhängig ist. Bei N- und P-Mangel-, sowie K-Überschußernährung ge- und erfroren die Pflanzen nach Maßgabe der höheren Zellsaftkonzentration bei allerdings nur etliche Zehntel Grad tieferen Temperaturen als bei den übrigen Ernährungsformen. Das frühere

oder spätere Eintreten des Kältetodes erwies sich also in diesem Falle als von rein physikalischen Gesetzmäßigkeiten abhängig. Für das unterschiedliche Verhalten der nämlichen Pflanzen bei knapp oberhalb 00 gelegenen Temperaturen konnte damals keine befriedigende Erklärung gefunden werden. Lediglich die günstige Wirkung reichlicher Kaliernährung ließ sich auf den bekannten Einfluß des Kaliums auf die Wasserbilanz zurückführen. Da aber die Pflanzen unter den gesetzten Bedingungen auch bei Vermeidung eines Wasserdefizits, wenn auch erst nach längerer Zeit, eingingen, konnte die Störung des Wasserhaushaltes nicht allein für das Absterben maßgebend sein. Früher wurde schon darauf hingewiesen, daß die in Kartoffelpreßsaft gefundene Reaktionsverschiebung nach der alkalischen Seite hin auf Veränderungen des N-Stoffwechsels schließen läßt. Wie nun im folgenden gezeigt wird, besteht tatsächlich zwischen dem Verlauf des Eiweißstoffwechsels und dem Absterben dieser Pflanzen ein enger Zusammenhang. Der Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung wird unter diesem Gesichtspunkt völlig verständlich.

Die vorliegende Arbeit ist nun so aufgebaut, daß im ersten Teil vor allem der Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung und verschieden hoher Luftfeuchtigkeit auf das Verhalten der Versuchspflanzen bei niederen Temperaturen behandelt wird, während der zweite Teil im wesentlichen die Untersuchungen über den N-Stoffwechsel enthält. In einem besonderen Abschnitt werden Versuche über die Ursachen der bei niederen Temperaturen gehemmten Wasseraufnahme mitgeteilt.

### B. Versuche.

### I. Teil

Das Verhalten von Bohnen, Tabak und Tomaten bei niederen Temperaturen unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses verschiedener Mineralsalzernährung und verschieden hoher Luftfeuchtigkeit.

 Der Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung auf das Verhalten von Bohnenpflanzen bei +5° ± 1°.

Die Wahl der Bohne, Buschbohne Wachsdattel, als Versuchspflanze war wegen ihrer wirtschaftlichen Bedeutung und eines methodischen Vorteils getroffen worden, der für physiologische Untersuchungen in dem Besitz des dreiteiligen Blattes zu sehen ist. Die Düngung und Anzucht der Pflanzen wurde in der aus früheren Versuchen bekannten Weise durchgeführt mit der Änderung, daß dem Flußsand ein gleicher Teil reiner Quarzsand beigemischt wurde. Die Aussaat erfolgte im geheizten Gewächshaus am 22. Februar 1933. Die Pflanzen waren Anfang März etwa 25 cm hoch und hatten außer den Primärblättern die zwei ersten Blätter fast voll entwickelt, die dritte Blattserie erreichte durchschnittlich eine

Länge von 5 cm. Am 7. März wurden je Ernährungsart zwei Vegetationsgefäße in die kühlbaren Gewächshäuser gebracht und einer Temperatur von  $+5\,^{\circ}\pm1\,^{\circ}$  ausgesetzt. Von einer Parallelreihe wurden je vier erste Blätter abgeschnitten und in großen Petrischalen über Wasser bei der nämlichen Temperatur aufbewahrt. Zu gleichfalls ausgeführten Wassergehaltsbestimmungen dienten die zweiten Blätter. Am 23. März, d. h. nach 16 tägigem Aufenthalt bei  $+5\,^{\circ}\pm1\,^{\circ}$ , ergab sich folgendes Bild für je zehn Pflanzen:

n: zwei Primärblätter vertrocknet;

K+: an drei Primärblättern am Rande Vertrocknungserscheinungen bemerkbar:

K—: alle Primärblätter abgestorben; das erste Blatt an zwei Pflanzen völlig vertrocknet; das zweite Blatt an einer Pflanze ganz, an zwei Pflanzen zur Hälfte vertrocknet; an einer Pflanze auch das dritte Blatt zur Hälfte abgestorben;

N | : alle Primärblätter tot; an einer Pflanze der Rand und die Spitze des ersten Blattes abgestorben;

N--: alle Primärblätter abgestorben; das erste Blatt an zwei Pflanzen von Spitze und Rand her auf 5 mm vertrocknet; an einer Pflanze auch der Rand des zweiten Blattes bis 2 mm tief abgestorben;

P--: alle Primärblätter fast völlig abgestorben;

P--: Primärblätter tot; die ersten Blätter an sechs Pflanzen zur Hälfte vertrocknet; an denselben Pflanzen die zweiten und dritten Blätter von Spitze und Rand her bis zu 1/3 tot.

Die Abbildung 1 zeigt eine dieser Ernährungsreihen vier Tage später, am 27. März. Die P-Pflanzen waren inzwischen abgestorben.

Am 2. April wurde die Kühlung abgebrochen und die Pflanzen in ein Warmhaus gebracht. Innerhalb der nächsten 14 Tage gingen die K—-, N+-, P—- und N—-Pflanzen ein. Bei den K+-Reihen starben durchschnittlich nur die ersten Blätter ab. Von den n- und P+-Pflanzen gingen fünf bzw. sechs Stück ein, an den übrigen fünf bzw. vier Pflanzen blieben nur noch die jüngsten Blättchen am Leben.

Das Verhalten der abgeschnittenen Blätter, von denen die eine Hälfte bei  $+16^{\circ}$  bis  $+20^{\circ}$ , die andere bei  $+5^{\circ}\pm1^{\circ}$  am Licht aufbewahrt wurde, geht aus folgendem hervor:

- a) Blätter bei + 16° C bis 20° C: am 27. März: N—-Blätter vergilbt und nicht mehr turgeszent; am 5. April: n—, P+- und K+-Blätter stark gelb, aber noch turgeszent; N+, K—- und P—- Blätter voll grün und turgeszent; am 15. April: außer den K— und N+-Blättern, die gelb gefärbt sind, alle Blätter tot; am 17. April: alle Blätter tot.
- b) Blätter bei +5° C  $\pm 1$ ° C am 23. April: N—- Blätter tot, K+- Blätter werden gelb; am 27. April: K+- Blätter abgestorben: am 4. Mai: P+-, P—- und K—- Blätter gehen infolge Botrytisinfektion ein; am 12. Mai: n— und N+- Blätter werden gelbgrün; sind noch voll turgeszent, die Nerven färben sich braun.



Verschieden ernährte Bohnenpflanzen, vom 7. bis 27. März bei  $+5 \, \circ \, \mathrm{C}$  gehalten.

Zu demselben Resultat hatte ein im November/Dezember 1932 angestellter Versuch geführt: die stärksten Schädigungen traten bei den P—-, K—- und N—-Pflanzen auf; am besten überstanden die K+-Pflanzen die Kühlung. Diesen zunächst waren nach dem Schädigungsgrad die n- und P+-Pflanzen einzureihen; die N+-Pflanzen zeigten sich weniger widerstandsfähig als letztere. Abgeschnittene und vom 15. Dezember 1932 ab bei  $+5^{\circ}$  in feuchtem Raum am Licht gehaltene Blätter waren am 20. Januar 1933 noch voll turgeszent; ebenso blieben von normal ernährten Pflanzen stammende Blätter, die vom 15. Dezember bis 12. Januar bei  $+5^{\circ}$  und dann noch zehn Tage bei  $+2^{\circ}+1^{\circ}$  standen, gesund.

- 2. Versuche über den Einfluß der Luftfeuchtigkeit auf das Verhalten von Bohnen, Tomaten und Tabak bei inframinimalen Wachstumstemperaturen.
- a) Der Einfluß verschiedener Luftfeuchtigkeit auf das Verhalten von mit verschiedenen Kaligaben gedüngten Bohnenpflanzen bei  $\pm 5^{\circ} + 1^{\circ}$ .

Eine besondere Untersuchung des Einflusses der Luftfeuchtigkeit auf das Verhalten der Kalimangelpflanzen bei knapp über 0° gelegenen Temperaturen war vor allem im Hinblick auf die späteren Ausführungen über die Ursachen des Absterbens sogenannter nicht eisbeständiger Pflanzen unter diesen Bedingungen erforderlich. Im folgenden werden daher nur die Versuchsdaten mitgeteilt.

Je ein Gefäß mit je fünf normal bzw. unter Kalimangel gezogenen Bohnenpflanzen wurde unter eine feuchte Glaskammer gebracht und gleichzeitig mit ebenso ernährten, aber frei transpirierenden Pflanzen am 7. März 1934 in einem kühlbaren Gewächshaus einer Temperatur von + 50 + 10 ausgesetzt. Am 18. März waren bei den freistehenden, normal ernährten Pflanzen die Ränder und Spitzen der Primärblätter am Absterben, während bei den K-Pflanzen die Primär- und ersten Blätter völlig und die zweiten von der Spitze und dem Rand her bis etwa zur Hälfte vertrocknet waren. Auch interkostal traten bei letzteren Vertrocknungsflecken bis zu etwa 3 mm Durchmesser auf. Am 23. März lebten bei den K-Pflanzen nur noch die jüngsten, bis zu 4 cm langen Blättchen, bei den n-Pflanzen waren nur die Primärblätter tot. Demgegenüber ließen die in feuchtem Raum gehaltenen Pflanzen sowohl bei normaler als auch bei Kalimangelernährung am 23. März keinerlei Schädigung erkennen. Am 24. März ins Gewächshaus übergeführt, gingen die stark geschädigten K---Pflanzen, deren Transpiration ungehindert war, in den nächsten Tagen ein, während die übrigen, einschließlich der feucht gehaltenen K-Pflanzen, nur die ersten Blätter durch allmähliches Gelbwerden verloren und sich im übrigen normal weiter entwickelten.

b) Der Einfluß verschiedener Luftfeuchtigkeit auf das Verhalten von Bohnen-, Tomaten- und Tabakpflanzen hei + 20 + 10.

Bei den Versuchen mit Bohnen und Tomaten war es zum Schutze der Pflanzen vor der zuströmenden, auf etwa – 5° gekühlten Luft notwendig, auch die, deren Transpiration ungestört bleiben sollte, unter Glaskammern zu bringen. Um in dem kleinen Raum von  $40\times40\times50$  cm Ausmaß die Luftfeuchtigkeit niedrig zu halten, wurden die Blumentöpfe, in denen die Pflanzen gezogen worden waren, in etwas größere Gefäße gestellt, der zwischen den Wänden verbleibende Raum mit Kies ausgefüllt und die gut befeuchtete Topferde ebenfalls mit Kies abgedeckt. Auf den Kies kam eine Schicht Glaserkitt und auf den Boden des Untersatzes gebrannter Kalk. Die relative Luftfeuchtigkeit betrug in Pflanzenhöhe durchschnittlich 97%. Bei den Vergleichspflanzen wurde zur Erzielung einer Luftfeuchtigkeit von 100% in den Untersatz Wasser eingefüllt.

Die Abbildungen 2a und 2b zeigen die Bohnen und Tomaten am 10. Dezember, nachdem sie vom 3. ab, d. i. während sieben Tagen, unter den angegebenen Bedingungen gestanden hatten. Die geschädigten Pflanzen wurden unmittelbar nach der Kühlung in ein Warmhaus unter feuchte Kammern gebracht, waren jedoch vor dem völligen Absterben nicht zu retten. Mangelnde Bodenfeuchtigkeit konnte, wie die Prüfung der Topferde ergab, nicht die Ursache des Absterbens der Pflanzen gewesen sein.

Ein ähnliches Ergebnis brachte ein Versuch mit Tabakpflanzen. Sechs etwa 30 cm hohe, gut entwickelte Tabakpflanzen wurden am 12. Januar 1934 in einem auf 10 - 10 gekühlten Gewächshaus aufgestellt. Davon kam die eine Hälfte unter feuchte Kammern zu stehen, während die anderen drei Exemplare frei transpirieren konnten. Gleichzeitig wurden von anderen Pflanzen Blätter mittleren Alters abgeschnitten und in großen Petrischalen der nämlichen Temperatur ausgesetzt. Schon am 13. Januar begannen die frei transpirierenden Pflanzen schlaff zu werden: in den nächsten Tagen verstärkte sich das Welken. Dagegen waren am 17. Januar auch die untersten Blätter der feucht gehaltenen Pflanzen noch voll turgeszent. Am Abend des 17. Januar wurden alle sechs Pflanzen ins Warmhaus zurückgebracht. Am 24. Januar waren bei den gewelkten Pflanzen je sieben bis neun untere Blätter abgestorben, die zwei bis drei nächst höher inserierten zeigten interkostal Vertrocknungsschäden. und nur die jüngsten Blätter erwiesen sich als unbeschädigt. Bei den feucht gehaltenen Pflanzen war nur das unterste Blatt gelb geworden und begann abzusterben. Die abgeschnittenen bei +10+10 am Licht aufbewahrten Blätter waren am 7. März! noch voll turgeszent und grün. An diesem Tag ins Laboratorium bei etwa 180 gebracht, begannen sie etwa vom 20. März ab gelb zu werden und waren am 25. März größtenteils tot.

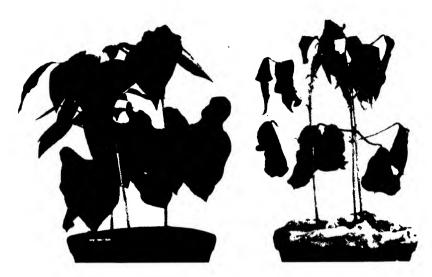


Abb. 2 a.



Abb. 2b.

Bohnen und Tomaten, 7 Tage bei  $+\,2^{\,o}$  C, links in feuchter, rechts in trockener Luft gehalten.

# 3. Versuche über das Absterben sogen. nicht eisbeständiger Pflanzen infolge Gefrierens.

Diese Versuche werden im Hinblick auf spätere Erörterungen mitgeteilt. Sie zeigen erstens, daß dem allmählichen Absterben von Bohnenund Tomatenpflanzen bei Einwirkung inframinimaler Wachstumstemperaturen, die aber kein Gefrieren der Pflanzen zur Folge haben, ganz andere Ursachen zugrunde liegen müssen, als dem beim Gefrieren eintretenden Tod. Zweitens sind sie m. E. ein Beweis dafür, daß die Todesursache beim Gefrieren tatsächlich in den Folgen der Eisbildung zu sehen ist und nicht etwa in der Temperaturwirkung an sich, die, auch wenn keine Eisbildung einträte und gleiche Einwirkungszeit vorausgesetzt, auf irgend eine Weise zum Absterben führen und nur nicht erkennbar sein würde.

Versuch 1. Je drei in Töpfen stehende, etwa 25 cm hohe Bohnenund Tomatenpflanzen aus dem Gewächshaus wurden am 15. März 1933 während 17 Stunden in einen auf  $-1,5^{\circ}$  eingestellten Thermostaten gebracht. Sie gefroren bei dieser Temperatur noch nicht. Wie ihre Weiterkultur im Gewächshaus ergab, waren sie nach dieser Behandlung unbeschädigt geblieben. Eine Wiederholung desselben Versuches mit Pflanzen der nämlichen Anzucht, wobei aber die Temperatur auf  $-1,7^{\circ}$  gesenkt wurde, ergab, daß nach 14 stündiger Kühlung die Bohnenpflanzen gefroren und völlig erfroren waren, während bei den Tomaten nur die jüngsten Blätter und die Wipfel gefroren und abgetötet waren.

Versuch 2. Vier gleichmäßig große, in ein und demselben Vegetationsgefäß gewachsene und etwa 35 cm hohe Tomatenpflanzen kamen am 5. November 1932 auf fünf Stunden in einen auf —2,3° gekühlten Raum zu stehen; zwei von diesen Pflanzen wurden unmittelbar vor dem Kaltstellen fein mit Wasser besprüht. Nach etwa zwei Stunden begannen die mit Wasser benetzten Pflanzen zu gefrieren, bei den anderen zwei trat keine Eisbildung ein. Nach Abbruch des Versuches waren bei den gefrorenen Pflanzen sämtliche Blätter und Blattstiele sowie die Wipfel abgetötet, die zwei anderen Pflanzen wiesen keinerlei Schädigungen auf und entwickelten sich in normaler Weise weiter.

Ergebnis. Die Tatsache, daß im ersten Versuch bei der 17stündigen Abkühlung auf —1,5° keinerlei Schädigung zutage trat, während bei der drei Stunden kürzeren Einwirkung von —1.7° C die Bohnen völlig und die Tomaten z. T. erfroren waren und ferner die, daß in dem zweiten Versuch die unterkühlten Pflanzen völlig gesund blieben, während die anderen erfroren, ist doch wohl nur so zu erklären, daß die relativ kurz dauernde Kühlung an sich keine letalen Folgen hatte, sondern daß der Tod infolge des Gefrierens eintrat. Physiologischen Stoffwechselstörungen, für die doch einigermaßen die R.G.T.-Regel gelten müßte, konnte dabei keine größere Bedeutung zukommen. Es kann daher nicht zur

Klärung des Kältetodes beitragen, wenn man die Ursache des Absterbens bei inframinimalen Temperaturen lediglich bzw. hauptsächlich in Stoffwechselstörungen sieht. Von dem Kältetod, der bei niederen Temperaturen als die Folge einer Störung lebenswichtiger physiologischer Funktionen eintritt, ist der zu unterscheiden, der aus der Eisbildung allein bzw. deren Folgen resultieren kann. Daß der Gefrierprozeß unabhängig von Stoffwechselstörungen zum Kältetod führt, haben an anderen Objekten schon Müller-Thurgau (6) und Voigtländer (12) in ihren Versuchen über das Unterkühlungsphänomen bewiesen.

### 4. Über die Ursache der

bei niederen Temperaturen gehemmten Wasseraufnahme.

Bekanntlich ruft Verdrängung des Sauerstoffes von der Wurzeloberfläche eine Hemmung der Wasseraufnahme und schließlich Welken der Pflanzen hervor. Da nun mit fallender Temperatur die Löslichkeit der Kohlensäure in Wasser in stärkerem Maße zunimmt als die des Sauerstoffes, konnte daran gedacht werden 1), daß durch die Verschiebung des Gleichgewichtes CO<sub>2</sub>:O<sub>2</sub> zugunsten von CO<sub>2</sub> die Sauerstoffaufnahme gehemmt wird.

Zur Prüfung dieser Frage wurden sechs Tabakpflanzen sorgfältig von der den Wurzeln anhaftenden Erde befreit, in verdünnte Knoopsche Nährlösung gestellt und in ein auf +2° gekühltes Gewächshaus gebracht. Durch die Nährlösung von drei Pflanzen wurde ununterbrochen in langsamem Strom gewaschener Sauerstoff durchgeleitet; die anderen drei Pflanzen dienten als Kontrolle. Nach mehrtägiger Durchführung des Versuches war ein Unterschied in dem Verhalten der sechs Pflanzen nicht festzustellen. Unter natürlichen Bedingungen dürfte daher dem im Boden herrschenden Kohlensäure-Sauerstoffverhältnis keine Bedeutung für das Kältewelken zukommen.

Einen Beweis dafür, daß bei niederen Temperaturen die Wasseraufnahme durch eine Erhöhung des Filtrationswiderstandes der Wurzeln für Wasser gehemmt wird, hat Bode (1) an Sonnenblumen erbracht. Eigene, nach derselben Methode mit Tomaten- und Tabakpflanzen angestellte Versuche führten zu dem nämlichen Ergebnis. Die Versuche mit Tabakpflanzen seien kurz mitgeteilt. Die Wurzeln wurden sorgfältig von Erde befreit und in mit Regenwasser gefüllte Gläser gestellt. Der Stengel wurde dann etwa 5—7 cm oberhalb der Wurzeln abgeschnitten und an eine Saugpumpe angeschlossen. Die Gewichtsabnahme des Wassers nach jeweils zweistündiger Saugung unter gleichem, am Manometer kontrol-

<sup>1)</sup> Diese Vermutung ist, soviel erinnerlich, schon von anderer Seite ausgesprochen worden. Leider konnte ich die betreffende Literaturstelle nicht wieder auffinden. Diesbezügliche Versuche sind meines Wissens nicht angestellt worden.

verändert.

lierten Druck konnte als ein Maß für die Geschwindigkeit des Wasserdurchtritts durch die Wurzeln angesehen werden, wenn man eine größere Änderung des Leitungswiderstandes nicht annahm. Vor jeder Saugung wurde eine neue Schnittfläche hergestellt und eine Pflanze bei wechselnder Temperatur zu jeweils zwei oder drei Saugungen benutzt. Diese nahm man nicht direkt hintereinander vor, sondern stets nach einer mehrstündigen Pause, während der die Objekte in die Temperatur der darauffolgenden Saugung zu stehen kamen. Die durchgesaugten Wassermengen geben die nachfolgenden Versuchsprotokolle an:

Pflanze 1: 27. Dezember 1933, 8,30 bis 10,30 Uhr: +25° = 16,5 g Wasser 27. Dezember 1933, 18.00 bis 20.00 Uhr:  $+20 = 4.5 \,\mathrm{g}$  Wasser 28. Dezember 1933. 9.00 bis 11.00 Uhr: -1-200 = 12.0 g Wasser Pflanze 2: 28. Dezember 1933, 11,15 bis 13,15 Uhr: + 30 - 4,0 g Wasser 29. Dezember 1933, 8,30 bis 10,30 Uhr: +22° = 9,0 g Wasser 29. Dezember 1933, 17,30 bis 19,30 Uhr:  $+ 3^{\circ} - 4.5 g$  Wasser 1934, 8,30 bis 10,30 Uhr:  $+22^{\circ} = 7.2 \,\mathrm{g}$  Wasser Pflanze 3: 22. Februar 1934, 8,30 bis 10,30 Uhr: |- 30-- 4,3g Wasser 23. Februar Pflanze 4: 22. Februar 1934, 10,45 bis 12,45 Uhr: + 30 = 1,8g Wasser 1934, 18.25 bis 20.25 Uhr: +22° 4.2 g Wasser 22. Februar Die weitere Frage, ob die Erhöhung des Wurzelwiderstandes allein ein physikalischer Prozeß ist, der durch eine Permeabilitätserniedrigung für Wasser zustande kommt, wäre in besonderen Versuchen noch zu klären. Die Tatsache, daß die Permeabilität für Wasser bei niederen Temperaturen abnimmt, ist seit den Versuchen von Rysselberghe (7), Delf (2), Stiles und Jörgensen (11) bekannt und konnte in eigenen Versuchen mit einer Begonia spec. und Rotkohl bestätigt werden. Zu diesem Zweck wurden Epidermisstreifen der Blattunterseite einer Begonia spec., deren Zellen rotgefärbten Zellsaft führen, in etwa vierprozentiger Glycerinlösung plasmolysiert und die Zeit, die nach Übertragung der Schnitte in Wasser bzw. nach Verbleiben in der Glycerinlösung bis zum Rückgang der Plasmolyse verging, als Maß der Wasser- bzw. der Glycerinpermeabilität genommen. Im ersteren Falle waren bei +200 schon nach fünf Minuten alle Zellen vollkommen deplasmolysiert, während nach derselben Zeit bei +20 noch etwa 1/3 der Zellen deutliche Plasmolyse aufwiesen. Im zweiten Fall war nach Verbleiben in der Glycerinlösung hei +200 nach 13 Stunden weitgehende Deplasmolyse eingetreten, während bei +2° der Plasmolysegrad keine deutliche Änderung zeigte. Da durch die Plasmolyse mit Glycerin bei 200 stets ein Teil der Zellen getötet wurde, kam in anderen Versuchen eine etwa 15 prozentige Rohrzuckerlösung in Anwendung. Die Deplasmolyse in Wasser verlief auch hier bei 200 deutlich rascher als bei +20. Der Plasmolysegrad in der Rohrzuckerlösung blieb bei 200 und 20 nach 24 Stunden gleich unDie Versuche mit Rotkohl wurden in der Weise ausgeführt, daß man Blätter während 24 Stunden anwelken ließ und die getrennten Blatthälften dann mit den Schnittflächen in Wasser von 2° und 20° einstellte und nach einstündigem Stehen unter feuchter Kammer die Gewichtszunahme bestimmte.

Die nachfolgende Tabelle gibt für drei Blätter die gewonnenen Zahlen an.

Tabelle 1. Wasseraufnahme entsprechender Blatthälften von Rotkobl bei  $\pm 2^{\circ}$  und 20" C.

	Ausgangs- gewicht	Temperatur	Gewichts- zunahme
Blatt 1	1,948 1,962	2 20	0,142 0,343
Blatt 2	0,939 0,891	2 20	0,088 0,108
Blatt 3	1,160 1,371	2 20	0,10 <b>3</b> 0,23 <b>4</b>

Die Erniedrigung der Permeabilität bzw. die Erhöhung des Filtrationswiderstandes, die in unseren Versuchen die Wasseraufnahme bei +2° auf etwa die Hälfte von der bei 20° herabsetzte, könnte bei entsprechender Transpiration allein schon das Absterben von Bohnen-, Tabak- und Tomatenpflanzen zur Folge haben. Mit der Störung des Wasserhaushaltes erschöpft sich aber die schädliche Wirkung niederer Temperaturen nicht; denn diese Pflanzen sterben, wie weiter vorn gezeigt wurde, auch dann, allerdings langsamer, ab, wenn durch Transpirationshemmung eine Wasserbilanzstörung vermieden wird.

Schließlich sei noch, wie folgender Versuch zeigt, erwähnt, daß die älteren Blätter von Tomatenpflanzen schon abzusterben beginnen, wenn die Wurzeln durch Bluten der Stumpfe noch aktive Lebenstätigkeit erkennen lassen. Acht Tomatenpflanzen, zu je vier in einem Vegetationsgefäß stehend, wurden am 4. Januar 1933 bei  $+3^{\circ}$  in feuchte Kammern gestellt. Am 5. Januar wurden je zwei Pflanzen dekapitiert. Drei davon zeigten am 16. Januar noch deutliches Bluten. An demselben Tage wurden die Gefäße in ein Warmhaus übertragen. Nach fünf bis sieben Tagen waren drei bis fünf untere Blätter abgestorben.

### Zusammenfassung.

In den an erster Stelle mitgeteilten Versuchen mit Bohnen hat sich der Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung auf das Verhalten dieser Pflanzen gegenüber der Einwirkung niedriger, aber über 0° gelegener Temperaturen in demselben Sinne wie früher bei Tomaten und Kartoffeln geltend gemacht. Es kann daher die Tatsache als gesichert betrachtet werden, daß sogenannte nicht eisbeständige Pflanzen bei N-, K- und P-Mangelernährung unter den gewählten Bedingungen am frühesten und stärksten geschädigt werden, während durch gute K-Versorgung die Resistenz deutlich erhöht wird. Reichliche N-Ernährung macht diese Pflanzen ebenfalls weniger widerstandsfähig als mittlere Gaben dieses Nährstoffes. Erhöhte P-Gaben bewirken gegenüber normaler Düngung keine deutlich hervortretende Änderung der Kältewiderstandsfähigkeit.

Nach dem Ausfall der Versuche mit abgeschnittenen und feucht gehaltenen Blättern sowie dem Ergebnis derer, in denen die Pflanzen bei verschiedener Luftfeuchtigkeit gehalten wurden, ist die Annahme naheliegend und berechtigt, daß bei diesen Pflanzen in erster Linie die Störung des Wasserhaushaltes als Ursache der schädigenden Wirkung niedriger Temperaturen anzusprechen ist, wie schon Sachs (8) für Tabak, Kürbis und Schminkbohnen angenommen hat. Daß jedoch damit die Kältewirkung nicht völlig geklärt ist, beweist die Tatsache, daß nach unseren Versuchen auch voll wassergesättigte Pflanzen nach längerem Stehen bei niederen Temperaturen eingehen. Außerdem kann der Wasserverlust der Bohnenblätter, die von Pflanzen aus einer Parallelreihe zu dem auf Seite 339 mitgeteilten Versuch, kurz bevor sichtbare Schäden auftraten, genommen worden waren, nicht als letal angesehen werden. In Tabelle 2 sind die erhaltenen Trockengehalte zusammengestellt.

	Tabelle 2.								
Ernährung	16 bis 20 ° C	+6° C vom 6. bis 18. März 1933							
n	14,77	18,11							
к + к —	14,58	16,73							
K	16,09	18,21							
N +	13,96	17,07							
N —	12,64	12,81							
P +	10,15	16,49							
P -	17.74	19.89							

Tabelle 2

Dies alles deutet darauf hin, daß eine zusätzliche Wirkung anderer Schädigungsfaktoren in Betracht zu ziehen ist, von denen einer sicherlich in den im folgenden Abschnitt näher untersuchten Änderungen des N-Stoffwechsels gesehen werden muß.

#### II. Teil.

Der N-Stoffwechsel nicht eisbeständiger Pflanzen bei niederen Temperaturen.

Während es bei solchen Pflanzen, die in gefrorenem Zustande längere Kälteperioden zu überdauern vermögen, nicht sehr wahrscheinlich erschien, daß der bei zum Teil weit unter 0° gelegenen Temperaturen eintretende Tod die Folge von chemischen Stoffumlagerungen größeren Ausmaßes sein würde, ließ bei den sogenannten nicht eisbeständigen Pflanzen schon der Verlauf des Absterbevorganges bei knapp über 0° gelegenen Temperaturen vermuten, daß Stoffwechselstörungen im eigentlichen Sinne des Wortes zum Tode dieser Pflanzen führen würden. Bekanntlich hat schon Molisch (3) bei tropischen Pflanzen die Ansicht geäußert, "daß schädliche Stoffwechselprodukte entstehen könnten, die bei gewöhnlicher Temperatur verbraucht würden, bei niederer aber sich sammeln und so das Plasma schädigen".

Die Veränderungen des Kohlehydratstoffwechsels, des Wasserhaushaltes, der Wasserstoffionenkonzentration und der Zellsaftkonzentration sind bei Kartoffeln und Tomaten in der früheren Arbeit (9) untersucht worden. Sie verlaufen prinzipiell in derselben Richtung wie bei den kältefesten Wintergetreidearten. Auf innerhalb der N-Verbindungen auftretende Veränderungen hat u. a. die seinerzeit bei Kartoffellaub mit dem Abhärten parallel gehende Erhöhung des pH-Wertes hingewiesen (vgl. l. c. S. 369).

Über die Abhängigkeit des N-Stoffwechsels von der Temperatur hat nur Mothes (4 u. 5) mit den unseren vergleichbare Versuche angestellt, die aber im Zusammenhang mit ganz anderen Fragestellungen entstanden waren. Mothes kam zu der allgemeinen Feststellung, daß bei verdunkelten und belichteten Pflanzen (Vicia faba) mit dem Absinken der Temperatur weniger lösliche N-Verbindungen gebildet würden als bei höherer Temperatur (Mothes 1926, S. 495).

### 1. Der N-Stoffwechsel

verschieden ernährter Bohnenpflanzen bei 50±10.

Wie im ersten Teil der Arbeit gezeigt wurde, starben die Bohnenpflanzen bei etwa  $5^{\circ}$  innerhalb drei Wochen völlig ab, wobei sich verschiedene Mineralsalzernährung in auffallender Weise bemerkbar machte. Durch die folgenden Untersuchungen sollte ein näherer Einblick in die Veränderungen des N-Haushaltes der unter den gleichen Bedingungen gehaltenen Pflanzen gewonnen werden. Zu den Analysen¹) verwendete man die Seitenfieder des zweiten Blattes mehrerer Pflanzen. Die Normalwerte lieferten die im geheizten Gewächshaus bei  $16^{\circ}$  bis  $20^{\circ}$  gewachsenen Pflanzen. Nach zehntägigem Stehen in einem kühlbaren Gewächshaus bei  $+5^{\circ}$  wurde die zweite Analyse entsprechender Blätter vorgenommen. Die Pflanzen erschienen nach dieser Zeit noch völlig gesund, nur bei den älteren Blättern der Mangelpflanzen traten die ersten Schädigungszeichen

<sup>1)</sup> Die Methode der N-Bestimmungen ist in der vorangegangenen Arbeit angegeben (diese Zeitschrift, Bd. 8, Heft 2).

auf. Die Resultate dieser Versuche sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Die relativ geringen Schwankungen des Wassergehaltes der benutzten Blätter (vgl. Tabelle 2) ließen das Frischgewicht als Bezugskonstante brauchbar erscheinen.

	Tabelle 3. N-Bilanz von verschieden ernährten Bohnenuflanzen bei niederer Temperatur.							
N-Bilanz	von	verschieden	ernährten	Bohnenpflanzen	bei	niederer	Temperatur.	

		Auf	1 g Frisch	ngewicht b	ezogen
Ernäh- rung	Zeit und Temperatur	mg E. N	mg l.N	Gesamt-N	l. N in %/o des. Gesamt-N
n	29. April 1983; 16 bis 20° C 29. April bis 9. Mai: +5° C	4,47 4,39	0,497 0,925	4.97 5,32	10,00 17,39
к+	29. April 1938; 16 bis 20° C 29. April bis 9. Mai; +5° C	4,21 3,98	0,492 0,754	4,70 4,78	10,47 15,94
К –	28. April 1933; 16 bis 20° C 28. April bis 8. Mai; +5° C	4,88 4,59	0,629 1,186	5,51 5,78	11,42 20,52
N +	29. April 1983; 16 bis 20° C 29. April bis 9. Mai; +5° C	5,14 4,98	0,651 1,324	5,79 6,30	11,24 21,02
N —	28. April 1933; 16 bis 20° C 28. April bis 8. Mai; +5° C	3,54 3,29	0,358 0,502	3,90 3,79	9,18 13,25
P +	29. April 1933; 16 bis 20° (° 29. April bis 9. Mai; +5" (°	4,96 4,67	0,524 0,920	5,48 5,59	9,56 16,46
P -	28. April 1933; 16 bis 20 ° C 28. April bis 8. Mai; +5 ° C	2,95 2,87	1,02 1,93	3,97 4,80	25,69 40.21

Ergebnis. In bezug auf den Gesamt-N fielen die N— und P—Pflanzen durch ihren geringen Gehalt daran auf. Die N |--, K— und P |-- Pflanzen wiesen, wie bei Gerste, die höchsten N-Werte auf. Die K |-- Pflanzen zeigten einen relativ geringen N-Gehalt; der Gehalt an E. N ging dem an Gesamt-N parallel. Durch das Stehen bei |+50 erhöhte sich mit Ausnahme bei N-Mangelernährung der Gesamt-N etwas; der E. N nahm bei allen Reihen ab. Die Zunahme des Gesamt-N war demnach auf das stärkere Auftreten des l. N zurückzuführen. Demzufolge vergrößerte sich

der Quotient  $\frac{l.\ N}{\text{Ges.\ N}}$  unter den gesetzten Bedingungen bei allen Ernährungsarten. Die Zunahme des l. N war bei N+- und K—-Ernährung am größten, am geringsten bei N-Mangel und K-Überschuß; die P-Mangelpflanzen wiesen schon von vornherein einen hohen Gehalt an l. N auf; er erhöhte sich bei  $5^{\circ}$  auf  $40^{\circ}$ /o des Gesamt-N.

Da bei Kartoffelpflanzen mit gleichen Verhältnissen wie bei Bohnen zu rechnen ist, ergibt sich ein engerer Zusammenhang zwischen den früher bei ersteren Pflanzen festgestellten pH-Werten und der Menge löslicher N-Verbindungen. Die pH-Werte nehmen, wie die löslichen N-Verbindungen, bei niederen Temperaturen allgemein zu; bei P-Mangelernährung erreichen sie ein Maximum, bei N-Mangel ein Minimum. Unsere früher ausgesprochene Vermutung, daß die Abnahme der Wasserstoffionenkonzentration bei niederen Temperaturen in der Hauptsache die Folge von Veränderungen der N-haltigen Substanzen ist, kann damit als bestätigt gelten.

Die Versuche von Mothes (5) haben nun gezeigt, daß u. a. auch ein dauerndes schwaches oder ein wiederholtes stärkeres Wasserdefizit zu einer Vermehrung des l. N führt. Wenn unter unseren Bedingungen das Wasserdefizit der analysierten Blätter auch nur gering war, so konnte doch nicht mit Sicherheit entschieden werden, ob sich unsere Resultate auf die Temperaturwirkung allein zurückführen ließen. Dieselben Versuche wurden daher im Spätjahr 1933 zum Teil wiederholt und die Pflanzen während der Kühlung bei +4° unter Glaskästen bei 100 % relativer Feuchtigkeit aufgestellt. Zu den Versuchen wurden K+- und K--Pflanzen benutzt und statt der zweiten Blätter die ersten und dritten jeweils getrennt zu den Analysen verwendet. Da die Pflanzen verhältnismäßig jung waren, konnten die ersten Blätter nicht als ausgewachsen bezeichnet werden, sondern waren als noch physiologisch junge anzusehen. Außer dem E.- und l. N wurde in diesen Versuchen auch der NH,- und Amid-N bestimmt. Die Resultate enthält Tabelle 4.

Tabelle 4. N-Bilanz von jüngeren und älteren Bohnenblättern bei  $+\,20\,^{\circ}$  C und  $+\,4\,^{\circ}$  C, in Abhängigkeit von verschiedener K-Ernährung.

		mg N auf 1 g Frischsubstanz						
Er- nährung und Blattalter	Zeit und Temperatur	Gesamt-N	E. N	L N	Amid-N	NH3-N	l. N in % des Gesamt-N	Amid-N in %, des l. N
K+ älter K+ älter	10. November; 20° C 10. bis 18. November; +4° C	6,3336 3,4499				0,05307 0,01408		12,50 6,944
K+ jung K+ jung	10. November; 20 ° C 10. bis 18. November; +4° C	5,9535 <b>4,42</b> 61				0,03289 0,03207		17,40 3,45
K— älter K— älter	12. November; 20,° C 12. bis 20. November; +4° C	5, <b>9</b> 757 3,1689				0,04894 0,01944		16,00 5,43
	12. November; 20 ° C 12. bis 20. November; +4° C					0,01683 0,02266		5,92 4,49

Ergebnis. Der Einfluß der K-Ernährung auf den Gesamt-N-Gehalt war in diesen Versuchen nicht zu erkennen. Die Pflanzen zeigten auch

äußerlich keinen Unterschied, was wohl, außer auf ihre Jugend, auf versehentliches Gießen mit Leitungswasser zurückzuführen sein dürfte. Die dritten Blätter wiesen einen niedrigeren N-Gehalt auf als die ersten. ein Zeichen, daß beide noch stark im Wachstum begriffen waren. Die Kühlung bei +40 führte auch bei 100% relativer Feuchtigkeit zu einer Verminderung des E. N. Bei den älteren Blättern erreichte der Verlust fast 50 %, bei den jüngeren war er viel geringer. Auch der l.N nahm absolut pro Einheit Frischgewicht etwas ab, aber in geringerem Maße als der E.N, so daß auch in diesem Falle der Quotient  $\frac{l.N.}{Ges.N}$  mit der Temperatursenkung größer wurde. Die Zunahme des l. N war, wie früher, bei den K-Pflanzen viel größer als bei den K+Pflanzen. Was den NH<sub>3</sub>- und NH<sub>3</sub>-N betrifft, so war der erstere bei den älteren Blättern bei niederer Temperatur deutlich vermindert, bei den jüngeren Blättern war keine größere Veränderung festzustellen; der Amid-N machte bei höherer Temperatur etwa 12 bis 17 % des l. N aus, bei 4 % nur noch etwa 3 bis 7 %. Bei den jüngeren Blättern der K-Pflanzen war der Amidgehalt auch bei +200 nicht hoch. Als wichtigstes Ergebnis dieser Versuche ist die Tatsache herauszustellen, daß die Eiweißabnahme und das relative Ansteigen des l. N. eine Folge der Temperaturerniedrigung an sich war und nicht etwa die eines Wasserdefizits.

Tabelle 5.
Einfluß von Licht und Feuchtigkeit auf die N-Bilanz von Bohnenpflanzen bei niederer Temperatur.

		mg N au	f 1 g I	rischsu	bst <b>anz</b>	
Versuchsbedingungen 1)	Ernährung	Datum	E.N	1. N	Gesamt-N	l. N in % der Gesamt-N
Vom 28. bzw. 29. April bis 8. bzw 9. Mai bei +5° C, am Licht, frei transpirierend, dann vier Tage bei 20°C vom 9. bis 13. Mai	K + K - K + K -	9 Mai 8 Mai 13. Mai 13. Mai	3,98 4,59 3,89 4.078	0,754 1,186 1,317 1,412	4,78 5,78 5,207 5,490	15,94 20,52 25,29 25,72
Vom 29. April bis 10 Mai verdunkelt bei $+5^{\circ}$ ('	K+ K-	10. Mai 10. Mai	3,954 4,30	1,301 1,549	5,255 5,849	24,76 26,48
Vom 29 April bis 9. Mai bei +5° C am Licht und frei transpirierend	n	9. Mai	4,89	0,925	5,315	17,40
Abgeschnittene Blätter, vom 29. April bis 10. Mai bei + 5°C am Licht, im feuchten Raum aufbewahrt.	n	10. Mai	4,848	0,604	4,947	12,21

<sup>1)</sup> Um Mißverständnisse zu vermeiden, sei bemerkt, daß nur die letzte Bestimmung an vorher abgeschnittenen Blättern ausgeführt wurde.

Anschließend werden noch Versuche mitgeteilt (Tabelle 5), die einmal die Nachwirkung der Kältebehandlung, dann den Einfluß der Verdunklung während der Abkühlung und drittens den Verlauf des N-Stoffwechsels in abgeschnittenen und kühl gestellten Blättern zeigen sollen. Die Versuche sind mit denselben Pflanzen, die zur Aufstellung der Tabelle 3 dienten, ausgeführt worden und stellen eine Erweiterung jener dar.

Aus der Übersicht geht folgendes hervor: Auch während der drei bzw. vier Tage, die nach dem Überführen der Pflanzen aus der Kälte in höhere Temperatur vergingen, schritt einerseits die Eiweißverarmung weiter fort, andererseits wurde das relative Ansteigen des l.N nicht sistiert. Durch Lichtentzug während der Abkühlung wurden beide Prozesse beschleunigt. Bei abgeschnittenen und in feuchtem Raum am Licht aufbewahrten Blättern ging der Eiweißabbau bei niederer Temperatur sehr langsam vonstatten: bei normaler Temperatur betrug der l.N 10 % vom Gesamt-N; wurden die Blätter abgeschnitten und bei 5° aufbewahrt, so stieg er auf 12,21 %, während er bei Blättern, die an kühl gestellten Pflanzen verblieben waren, 17,4 % des Gesamt-N ausmachte.

# 2. Versuche über den N-Stoffwechsel von Tomaten- und Tabakpflanzen bei niederen Temperaturen.

Die folgenden Versuche sind nicht in einem Zuge ausgeführt worden, sondern waren nach ihrer ganzen Anlage mehr ergänzender Art. Ihre Mitteilung ist aber schon deshalb notwendig, weil sie u.a. die Frage beantworten, ob die an Bohnen gefundenen Gesetzmäßigkeiten auch für andere, nicht eisbeständige Pflanzen, wie Tabak und Tomaten, Gültigkeit haben.

Zu den Versuchen an Tomaten, deren Ergebnis in Tabelle 6 zusammengestellt ist, muß vorausgeschickt werden, daß nicht Fiederblätter derselben Pflanze zu den Bestimmungen benutzt wurden, sondern äußerlich gleichartig erscheinende, ganze, jüngere Blätter unter Ausschluß des Hauptstieles. Die zum Teil sehr starken Schwankungen des Wassergehaltes machten das Frischgewicht als Berechnungsgrundlage für die N-Fraktionen unbrauchbar, so daß nur die relativen Werte berücksichtigt werden konnten.

Ergebnis. Aus den Versuchen der Tabelle 6a geht hervor, daß die nur vier Tage dauernde Abkühlung auf  $+7^{\circ}$  eine Erhöhung des l.N zur Folge hatte, die auch nach zehntägigem Verweilen bei höherer Temperatur noch bestehen blieb. Dabei war der Kontrollwert vom 29. April mit 13,21 % l.N wahrscheinlich nicht als normal, sondern als schon erhöht zu bezeichnen, was auf die im Gewächshaus herrschende, stark schwankende Temperatur zurückzuführen war und auch in dem verhältnismäßig hohen Trockensubstanzgehalt zum Ausdruck kam.

N-Bilanz von Tomatenpflanzen bei niederer Temperatur.
a) In Abhängigkeit von der Luftfeuchtigkeit.

		,	0							
	Don't manage	Trocken-	Auf 1 g	Auf 1 g Frischgewicht	ewicht	l. N in %	Auf	1 8	Trockengewicht	richt ·
Zeit, Temperatur usw.	am des Frisch- gewichts	des Frisch- gewichts	mg E.	N mg	3 l. N		mg E. N	mg	mg l. N	mg Gesamt-N
Gewächshaus 12 bis 20° C	29. April 1933	22,89	3,197	0,	0,4865	į3,21	13,96	2,1	2,125	16,085
Licht; frei transpirierend .	3. Mai 1933	27,78	3,025		0,6474	17,62	10,89	2,33	33	13,22
Light; in feuchter Kammer 30. April bis 3. Mai bei + 7°C.	3. Mai 1933	15,85	2,755		0,3872	12,32	17,39	2,4	2,443	19,833
Licht; in feuchter Kammer. 3. bis 13. Mai bei 20°	13. Mai 1933	15,07	2,782		0,5564	16,67	18,46	 ,g,	3,693	22,158
		b) In Abhängigkeit von	ngigkeit vo	on Licht- und		K-Mangel.				
		Trocken-	Auf 1 g	Frischgewicht	ewicht	l. N in %	Auf	1 8	Trockengewicht	richt
Zeit, Temperatur usw.	Bestimmung am	substanz in '/, des Frisch- gewichts	mg E. 1	N   m,	mg l.N	des Gesamt-N	mg E. N	mg	mg l.N.	mg Gesamt-N
Gewächshaus 11 bis 20° C .	20. April 1933	18,67	7,302	 .o.	0,6927	8,67	39,1		3,71	42,81
	28. April 1933	11,18	5,495		0,9142	14,26	49,14		8,175	57,815
ohne K-Gabe	28. April 1933	9,77	3,518		1,463	29,37	36,02	14,98	98	51,00
	c) In	Abhängigkeit von Luftfeuchtigkeit und	it von Luf	tfeuchtig		K-Ernährung				
		. I	Trocken-			Auf 1	g Frischsubs	stanz		
Zeit, Temperatur usw	usw.	subs des g	substanz in % o des Frisch- gewichts	mg E.N	mg l. N	mg Gesamt-N	mg NH <sub>2</sub> -N	$_{ m ng}^{ m mg}$	1. N in %, des Gesamt-N	in % des 1. N
n-ernährt, in Komposterde, Gewächshaus, 12° bis 20° C, 16. November	hshaus, 12° bis 20° C, + 3° C. 24. November is 20° C, 17. November		14,62 16,92 14,02	8,047 7,025 4,214	1,042 1,381 0,431	9,089 8.406 4,615	0,1265 0,0242 0,1024	0,1012 0.1211 0,064	11,46 16,43 9,28 ·	12,14 1,754 23,76
vember bis 2. Dezember  K — ernährt, Gewächshaus, 12° bis 20° C, 17. November	is 20° C, 17. Nov		11,45 15,48	3,729 6.718	0,5664 0,924	4,2954 7,642	0,1015 0,154	0 <b>0,103</b>	13,18 12,09	17,92 16,67
A— ernanri, in renouter nammer, or ons 4 c, vember bis 2. Dezember	r, o or or e c, 1		11,91	5,877	1,078	6,955	0,1431	0,044	15,40	18,27

Die in Tabelle 6c zusammengefaßten Versuche lassen, da der Wassergehalt nicht sehr erheblich verschieden war, die Abnahme des E. N und die Zunahme des l.N pro Frischgewichtseinheit während der Abkühlung erkennen. Die Eiweißverminderung ging unter dem Einfluß der niederen Temperaturen auch bei voller Wassersättigung vor sich. Bei K-Mangel war der Quotient  $\frac{l.N.}{Ges.N}$  stets größer als bei guter Kaliversorgung. Der Amid-N war auch hier bei höherer Temperatur stärker vertreten als bei niedrigerer.

Die zu dem in der Tabelle 6b zusammengefaßten Versuch benützten

Tomatenpflanzen waren in Vegetationsgefäßen bei K-Mangel und normaler Grunddüngung gewachsen. Ein Gefäß wurde vor dem Einbringen in das auf +5° gekühlte Gewächshaus mit der zweifachen normalen Kaligabe gedüngt, das andere erhielt nur eine entsprechende Menge Wasser. Im Vergleich zu den mit Kali gedüngten Pflanzen verlief der Eiweißabbau bei den K-Mangeltomaten auffallend rasch. Dieses Ergebnis läßt die Annahme berechtigt erscheinen, daß das bei guter Kaliernährung im allgemeinen niedrige Verhältnis  $\frac{1.N}{\text{Ges N}}$  nicht allein eine Folge des an sich geringeren Gesamtstickstoffgehaltes ist, sondern daß das Kaliumion in den N-Stoffwechsel selbst in irgend einer Weise eingreift. Da, wie ich in besonderen Versuchen bei Bohnen-, Tomaten- und Tabakpflanzen beobachtet habe, die K-Pflanzen trotz ihres gewöhnlich höheren Zuckergehaltes nach Lichtentzug auch bei höherer Temperatur rascher als K+-Pflanzen absterben, ist zu vermuten, daß in erster Linie die verschiedene Geschwindigkeit des Eiweißabbaues die Ursache für dieses Verhalten ist.

Die folgenden, mit Tabakpflanzen angestellten Versuche unterscheiden sich von den vorhergehenden u. a. dadurch, daß erstens jeweils Blatthälften und zweitens jüngere und ältere Blätter getrennt zur Analyse verwendet wurden. Außerdem wurde die Blattfläche bestimmt und als Bezugskonstante benutzt. Die Pflanzen selbst (Nicotiana tabacum, Sorte nicht bekannt) waren etwa 50 cm hoch, voll grün und noch stark im Wachstum begriffen. Als ältere Blätter wurden die dritten und vierten, als jüngere die sechsten und siebenten gerechnet.

Wie die Tabelle 7 zeigt, waren die Ausgangswerte für das Verhältnis  $\frac{l.\ N}{\text{Ges.\ N}}$  ziemlich hoch. Die Ursache dafür ist auch hier in der starken nächtlichen Abkühlung des Gewächshauses zu sehen. Unter optimalen

N-Bilanz von Tabakpflanzen bei niederer Temperatur.

		Auf 1	Auf 1 g Frischgewicht	ewicht			-			2
Temperatur und Zeit	Blattalter	mg Gesamt-N	mg E. N	mg l.N	NH <sub>3</sub> -N	NH <sub>8</sub> -N	in % des Gesamt-N	Blattfläche	Gesamt-N	je 100 qcm Fläche
Pflanze 1: 20° C Gewächshaus										
6. Dezember	älter	3,978	3,255	0,7234	0,070	0,010	18,19	202,533 quem	13,858	6,84 6,84
Pflanza 1. 130 C in fauchtem	Jung	6,779	5,441	1,338	0,111	0,0223			10,64	10,55
Raum; 2. bis 29. Dezember	älter	3,782	3,00	0,7818	0,116	0,074		196,31 quem	12,529	6,38
	jung	5,929	4,839	1,09	0,218	0,091	18,38	124,462 qucm	11,407	9,17
Pflanze 2: Abgeschnittene Blät-										
ver, + o · O in reactiver Nammer	älter	ည က ည ည	9 796	0 8073	0 084	0.059	29 25 25			
	jung	5,559	4,288	1,271	0,231	0,064	22,86			٠
Pflanze 3: 20° C Gewächshaus										
12. März	älter							242,33	15,68	6,47
	jung							106,46	9,17	8,61
Pflanze 3: +2° C vom 12. bis										
24. März	älter							236,45	13,51	5,71
	jung							90,58	7,98	8,81

Verhältnissen hat z.B. Mothes (4) für den Quotienten  $\frac{1.N}{\text{Ges. N}}$  durchschnittlich den Wert  $\frac{10}{90}$  gefunden.

Als Folge der Kühlung trat auch bei Tabak in den älteren Blättern eine deutliche Eiweiß- bzw. Stickstoffverarmung zutage. Die oberen Blätter waren teilweise noch imstande, ihren N-Gehalt zu erhöhen. Bei den abgeschnittenen Blättern blieb das Verhältnis  $\frac{1.\,\mathrm{N}}{\mathrm{Ges.\,N}}$  während der fast fünf Wochen dauernden Abkühlung auf  $+2^{\,\mathrm{o}}$  beinahe konstant  $\left(\frac{22,85}{100}\right)$  bei einem Ausgangswert von etwa  $\frac{19}{100}$ ).

Zum Schluß muß noch auf einen gewissen Gegensatz unserer Ergebnisse zu denen von Mothes hingewiesen werden, der auf Grund seiner Experimente zu der Ansicht gelangte, daß in der Kälte allgemein die Menge der löslichen N-Verbindungen geringer sei als in der Wärme. Unsere Versuche stimmen nun mit denen von Mothes darin überein, daß der Amid-N in der Wärme höher ist als in der Kälte und ferner darin, daß der Eiweißabbau in ganzen verdunkelten Pflanzen oder in abgeschnittenen Blättern bei niedriger Temperatur langsamer vor sich geht als bei höherer. Dagegen haben wir gefunden, daß unter dem Einfluß niedriger Temperaturen der Quotient  $\frac{l.\ N}{E.N}$  in intakten belichteten Pflanzen größer wird. Mothes (4) leitet die Berechtigung zu seiner Aussage aus dem Versuch zur Tabelle 7,1 ab. Die Pflanzen (Vicia [aba), in einem Kalthaus bei etwa 80 (±?) stehend, ergaben das Verhältnis 13,68 1. N Dieser Quotient erhöhte sich auf  $\frac{18}{82}$ , nachdem die Pflanzen E.N zu 86.32. während neun Tagen in einem Warmhaus gestanden hatten. Dieser Befund entspricht offensichtlich unserem an Bohnen- und Tomatenpflanzen gewonnenen Ergebnis (vgl. Tabelle 5 und 6a) und ist darauf zurückzuführen, daß der bei  $+8^{\circ}$  erhaltene Ausgangswert als erhöht anzusprechen war und die durch die niedrige Temperatur von 80 induzierte Vermehrung des l. N bei der höheren Temperatur weiter fortschritt. Die Berechtigung zu dieser Annahme kann u. a. aus Tabelle 10,1 abgeleitet werden, wo Mothes für dieselben Pflanzen im Juli den Normalwert zu  $\frac{5,5}{91,09}$  angibt.

Ferner ergibt sich bei einem Vergleich der von Mothes für *Phaseolus multiflorus* als Ausgangswerte angegebenen Zahlen, daß im allgemeinen den Jahreszeiten entsprechend der l. N bei niedrigen Temperaturen relativ stärker vertreten war als bei den höheren, dem Wachstumsoptimum

näher gelegenen Temperaturen (vgl. Mothes 1926: Tabelle 7,3; 10,5 und 10,6; 14; 18; 19; 27b; 29 gegen Tabelle 8; 1; 27a und Mothes 1931: Tabelle 7; 16 gegen 20; 21 und 22). Demnach kann, ganz abgesehen von der Verschiedenheit der jeweils herrschenden Lichtverhältnisse, der Versuchspflanzen selbst und ihres Alters, aus den Ergebnissen von Mothes kein Widerspruch zu dem eigenen Resultat abgeleitet werden, daß nämlich intakte belichtete Pflanzen bei inframinimalen Wachstumstemperaturen einen im Verhältnis zum Gesamt-N relativ höheren Gehalt an l. N aufweisen als bei höheren Temperaturen.

#### 3. Eiweißstoffwechsel und

Verhalten der Pflanzen bei niederen Temperaturen.

Das Ergebnis der oben mitgeteilten N-Untersuchungen läßt sich dahin zusammenfassen, daß bei Bohnen-, Tomaten- und Tabakpflanzen unter der Einwirkung niederer, um 0° gelegener Temperaturen eine Vermehrung des l. N und eine Verminderung des E. N stattfindet. Das Blattalter macht sich dabei in der Weise geltend, daß in älteren Blättern der Eiweißabbau früher eintritt und rascher vor sich geht als in jüngeren. In abgeschnittenen und im feuchten Raum gehaltenen Blättern verändert

sich das Verhältnis  $\frac{1.\,N}{\mathrm{Ges.\,N}}$  innerhalb fünf Wochen kaum. Durch Verdun-

keln der Pflanzen wird der Eiweißabbau bei niedrigen Temperaturen beschleunigt. Bei feucht, d. h. unter Transpirationsverhinderung gehaltenen Pflanzen verläuft der Eiweißabbau langsamer als bei frei transpirierenden Pflanzen, die infolge verlangsamter Wasseraufnahme ein ± hohes Wasserdefizit erleiden. Nach Verbringen der gekühlten Pflanzen in höhere Temperatur wird der Eiweißabbau in älteren Blättern nicht gestoppt, sondern schreitet weiter fort.

Bei einem näheren Vergleich des N-Stoffwechsels mit dem Verhalten dieser Pflanzen bei niederen Temperaturen erkennt man einen engen Zusammenhang zwischen dem Absterben und dem Eiweißabbau. Die Geschwindigkeit des Abbaues in älteren und jüngeren Blättern derselben Pflanzen, in feucht gehaltenen oder frei transpirierenden Pflanzen und in abgeschnittenen Blättern, sowie der bei höherer Temperatur zum Teil weitergehende Abbau entspricht ganz dem früher beschriebenen Verlauf des Absterbens. Auch mit dem Verhalten der verschieden ernährten Pflanzen herrscht volle Übereinstimmung. Die N—- und P—-Pflanzen, die zuerst ein Eiweißminimum erreichen, sterben am frühesten ab; die K—und N+-Pflanzen, bei denen der Abbau viel rascher verläuft als bei den n- und auch den P+-Pflanzen, gehen früher als diese ein, und schließlich sind die K+-Pflanzen, bei denen der Abbau am langsamsten vor sich geht, gleichzeitig am widerstandsfähigsten. Auch das frühere oder spätere Absterben verschieden ernährter, abgeschnittener Blätter wird verständlich

(vgl. S. 339): Da offensichtlich die Blätter an Größe noch zunehmen und also schwaches Wachstum stattfindet, erreichen die N—-Blätter bei ihrem geringen N-Vorrat am frühesten ein Eiweißminimum; ihnen folgen die K+-Blätter; bei den P+-, besonders aber den K—- und N+-Blättern kann der von vornherein hohe Eiweißgehalt am längsten die lebensnotwendige Höhe bewahren. In besonderen Versuchen mit abgeschnittenen Rapsblättern, die bei +1° bis 3° aufbewahrt wurden, trat ebenfalls das viel frühere Absterben der K+-Blätter gegenüber dem der K—-Blätter eindeutig hervor.

Die Ursache des Absterbens von Bohnen, Tomaten und Tabak und in ähnlichem Grade kälteempfindlichen Pflanzen bei niederen, aber über 0° gelegenen Temperaturen können wir also in den Fällen, in denen dauerndes Welken nicht vorliegt und für sich allein schon den Tod verursachen kann, in einer Störung des N-Haushaltes erblicken. Diese Störung tritt bei niederen Temperaturen unabhängig von einem Wasserdefizit auf, wird aber durch Welken und ebenso durch Lichtentzug verstärkt. Sie führt schließlich zu einer Verminderung des Eiweißgehaltes auf ein Minimum, bei dessen Unterschreitung die ganzen Pflanzen bzw. ihre einzelnen Organe früher oder später absterben.

Die weitere Frage, durch welche Faktoren im Chemismus der Zelle der Eiweißabbau seinerseits zustande kommt, läßt sich zunächst dahin beantworten, daß bei niederen Temperaturen die synthetischen Prozesse eine stärkere Hemmung erfahren als die dissimilatorischen. Letztere überwiegen daher entsprechend den geringeren synthetischen Fähigkeiten der älteren Blätter zuerst in diesen; erst nach mehr oder weniger langer Zeit gewinnen sie auch in jüngeren Organen die Oberhand, die von vornherein mit stärkeren synthetischen Fähigkeiten ausgestattet sind. Das von dem der älteren Blätter abweichende Verhalten der jüngeren wird durch folgenden Versuch noch gekennzeichnet: Am 12. März 1934 wurden mehrere Tabakpflanzen in das auf +20! gekühlte Gewächshaus ohne Transpirationseinschränkung gestellt. In den ersten Tagen machte sich starkes Welken der ganzen Pflanzen bemerkbar. Nach drei bis vier Tagen setzte eine deutliche Erholung ein. Die jüngeren Blätter waren morgens völlig straff und zeigten nur noch tagsüber schwaches Welken; die fünf bis sechs unteren Blätter dagegen blieben welk. Als vom 21. März ab trübes Wetter eingetreten war, konnten die jüngeren Blätter auch tagsüber volle Turgescenz aufrecht halten. Die Größe des Wasserverlustes, den jüngere und ältere Blätter in den ersten drei Tagen erlitten, geht daraus hervor, daß die Trockensubstanz im Gewächshaus 9,2 % des Frischgewichtes bei älteren Blättern bzw. 11,38 % bei jüngeren ausmachte; nach dreitägigem Stehen bei +2° waren die Zahlen 10,65 % bei den älteren und 11,48 % bei den jüngeren. Über die gleichzeitige Veränderung des osmotischen Wertes gab die Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung der Preßsäfte (durch feines Zerreiben und Auspressen hergestellt) Auskunft. Sie betrug in jüngeren Blatthälften am 12. März 0,7° und nach zwölftägigem Stehen bei +2° am 24. März 1,12°. Während also die jüngeren Blätter vermutlich auch durch die beträchtliche Erhöhung der Zellsaftkonzentration einen ausgeglichenen Wasserhaushalt aufrecht halten konnten, war das bei den älteren Blättern nicht der Fall. Da durch Welken bekanntlich dissimilatorische Prozesse, insbesondere der Eiweißabbau beschleunigt werden, mußte unter den gegebenen Bedingungen die schon unter normalen Verhältnissen bestehende Leistungsverschiedenheit zwischen älteren und jüngeren Blättern noch deutlicher hervortreten.

Das erste Glied der Reaktionskette, das einerseits den Eiweißabbau auslöst bzw. beschleunigt und andererseits die Synthesen hemmt und schließlich zum Stillstand bringt, bleibt allerdings noch unbekannt. Man könnte daran denken, daß bei niederen Temperaturen eine Veränderung der physikalischen Struktur des Protoplasmas eintritt und dadurch Fermente inaktiviert werden. In erster Linie könnten Lipoide eine festere Konsistenz annehmen, worauf übrigens die nachgewiesene Permeabilitätserniedrigung hinweist, da bekanntlich auf die Durchlässigkeit der Plasmagrenzschichte Lipoide von maßgeblichem Einfluß sind. Auf der anderen Seite können auch rein chemische Gleichgewichte unter dem Einfluß niederer Temperaturen eine Verschiebung erfahren, wobei z. B. an die sog. Mutatoren des Eiweißstoffwechsels zu denken wäre. Die Mutatoren stellen nach Schulze (10) chemisch einheitliche Stoffe dar, die je nach ihrem Oxydationszustande als Aktivatoren oder Paralysatoren der Proteasen wirken, z. B. Zystin und Zystein u. a.

Schließlich sei noch bemerkt, daß für die Annahme, bei inframinimalen Wachstumstemperaturen würden bei den von uns untersuchten Pflanzen giftige Stoffwechselprodukte entstehen, kein Beweis erbracht werden konnte; denn bei der Einwirkung von Preßsaft und Auszügen aus absterbenden Blättern und Pflanzen auf Gewebeschnitte konnte keine toxische Wirkung festgestellt werden. Auch die gefundenen Ammoniakund Amidgehalte sprechen nicht für diese Vermutung, womit nicht gesagt sein soll, daß im späteren Verlauf des Absterbens keine größeren Mengen an diesen Stoffen nachgewiesen werden könnten. Primär scheinen sie aber den Tod der Blätter und Pflanzen nicht zu verursachen.

#### Zusammenfassung der Hauptergebnisse.

 Die Widerstandsfähigkeit von Bohnenpflanzen gegenüber niederen Temperaturen wird durch verschiedene Mineralsalzernährung in derselben Richtung verändert, wie früher für Tomaten- und Kartoffelpflanzen festgestellt wurde. Für die Widerstandsfähigkeit

- verschieden ernährter, sogenannter nicht eisbeständiger Pflanzen läßt sich demnach folgende, wohl allgemein gültige Resistenzreihe aufstellen: K+>n, P+>N+>K-, N- und P-.
- 2. Das Absterben von Bohnen-, Tomaten- und Tabakpflanzen bei niederen Temperaturen kann durch Hemmung der Transpiration zwar verzögert, aber nicht verhindert werden.
- 3. Abgeschnittene, in feuchtem Raum aufbewahrte Blätter bleiben bei niederen Temperaturen viel länger am Leben als unter den nämlichen Bedingungen an der Pflanze verbliebene Blätter.
- 4. Die Ursache des Absterbens dieser Pflanzen ist in Störungen des Wasser- und Stickstoffhaushaltes zu sehen.
- 5. Die Störung des Wasserhaushaltes kommt dadurch zustande, daß die Wasserpermeabilität bei niederen Temperaturen erniedrigt ist. Als Folge davon stellt sich ein dauerndes Wasserdefizit und schließlich Vertrocknen der Pflanzen ein.
- 6. Unabhängig von der Störung der Wasserbilanz wird bei niederen Temperaturen der N-Stoffwechsel verändert und zwar in der Weise, daß Eiweißstoffe abgebaut und einfachere N-Verbindungen, vor allem Aminosäuren, angehäuft werden. Die Folge davon ist eine Eiweißverarmung, die bei Überschreitung einer gewissen Grenze zum Tode führt.
- 7. Durch Lichtentzug und Welken wird der Eiweißabbau beschleunigt.
- 8. Ältere Blätter verarmen früher an Eiweiß und sterben daher eher ab als jüngere Blätter.
- 9. In abgeschnittenen Blättern bleibt der Eiweißhaushalt längere Zeit im Gleichgewicht als bei entsprechenden an der Pflanze verbliebenen Blättern.
- 10. Das frühere oder spätere Absterben der verschieden ernährten Pflanzen und der von solchen Pflanzen abgeschnittenen Blätter steht mit dem Ablauf ihres N-Stoffwechsels in engem Zusammenhang. Als ausschlaggebende Faktoren erweisen sich dabei der ursprüngliche Eiweißgehalt und die Geschwindigkeit des Eiweißabbaues.
- 11. Beim Erfrieren infolge Gefrierens können bei diesen Pflanzen physiologische Stoffwechselstörungen keine Rolle spielen. Der Tod ist in diesem Falle die unmittelbare Folge der Eisbildung.

stärksten aufweisen mußten. Gleichzeitig konnte ich bei den albicaten Blättern die physiologischen Mikromethoden erst ausprobieren, die für die mosaikkranken Blätter, bei denen die Untersuchung schwieriger ist, anzuwenden sind. Die Analyse albicaten Zuckerrübenblattmaterials auf Gesamt-Oxalsäure, Zucker, NH<sub>a</sub>- und NO<sub>a</sub>-N ergibt aufschlußreiche Zahlen:

Tabelle 1.

	H <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> + 2 H <sub>2</sub> O	Glukose	NH <sub>3</sub> -N	NO <sub>s</sub> -N	Summe N
Gesund I	98,5	33,9	0,44	1,09	1,58
	53,4	12,8	2,20	9,32	11,52
	184,2	93,7	0,37	0,56	0,98
	119,7	76,3	0,59	3,84	4,48
	55,6	68,0	2,62	10,09	12,71

#### Bemerkungen:

I = erste untersuchte Rübe.

II = zweite untersuchte Rübe.

Gesund = Analyse derjenigen Blätter, die keine albicaten oder hellgrünen Stellen aufweisen. Hellgrün = Analyse der hellgrünen Stellen der albicaten Blätter.

Albicat = Analyse der weißen Stellen der albicaten Blätter.

Sämtliche Angaben in der Tabelle in mg bezogen auf 1 g Trockensubstanz.

Es ist aus diesen Analysenzahlen ohne weiteres abzulesen, daß mit Abnahme des Oxalsäurewertes der Zuckerwert sinkt und der Stickstoffwert steigt. Das besagt aber, daß nicht nur, wie zu erwarten, die Assimilation in den albicaten Teilen gehemmt ist, sondern daß auch der Nitratstoffwechsel stark gestört sein muß, weil sich hohe NO<sub>3</sub>- (bis 18 mal soviel als in gesunden Teilen des Blattes) und NH<sub>8</sub>-Werte ergeben. Der aufgenommene Nitratstickstoff kann eben nur noch in ganz geringem Maße bei dem albicaten Teile des Blattes in den Stoffwechsel gerissen werden. Entsprechend zeigen denn auch qualitative Reaktionen auf Eiweiß (Xanthoproteïn-Reaktion) verminderten Eiweißgehalt. Beim mosaikkranken Blatt liegen die Dinge insofern anders, als der Chlorophyllapparat normal vorhanden ist, nur ist er quantitativ geringer entwickelt in den erkrankten Anteilen des Blattes als in den gesunden. Da sich nun erwies, daß die Calciumoxalatmengen im mosaikkranken Blattanteil geringer waren im Vergleich zum gesunden Blattanteil, so war auch zu vermuten, daß die übrigen Störungen im Stoffwechsel sich ähnlich auswirken würden wie bei dem calciumoxalatarmen albicaten Zuckerrübenblatt, was sich bestätigte. Nitrat-, Nitritund Ammoniak-N sind reichlicher im mosaikkranken Teil, dagegen ist der Eiweißgehalt geringer und die Stärkebildung stark gehemmt.

Es sind also bei dem albicaten Zuckerrübenblatt wie auch bei dem mosaikkranken Zuckerrübenblatt, nur graduell verschieden, die CO<sub>2</sub>-Assimilation, die Nitratreduktion und die Eiweißbildung gestört. Ich habe mich nun bemüht, eine Parallelität zwischen dem mikroskopisch am

Calciumoxalatgehalt erfaßbaren pathologischen Zustand des Blattes und den physiologischen Vorgängen experimentell aufzuweisen.

Es schien deshalb wesentlich, in erster Linie die Transpiration albicater und mosaikkranker Zuckerrübenblätter zu untersuchen, in zweiter Linie die Atmung, da deren vermutliche Störung auch indirekt aus der verminderten Calciumoxalatbildung schon abzuleiten ist. Die anzuwendende Methodik der Transpirations- und Atmungsuntersuchung mußte abweichend sein von den üblichen pflanzenphysiologischen Methoden, da es sich bei der Untersuchung besonders der mosaikkranken Rübenblätter um eine gewissermaßen punktuelle Auswertung des Blattes handelt, also Blätter in toto garnicht untersucht werden können. Ich begnügte mich daher vorderhand auch mit einer qualitativen Methode, einer Methode, die also ermöglicht, zwei Blattstellen, erkrankt und gesund, vergleichend zu untersuchen in Rücksicht darauf, ob sie beide gleich große Leistung aufweisen, oder aber, ob bei der einen Blattstelle eine verminderte Leistung nachzuweisen war. Ich habe mehrere qualitative Mikro-Methoden zum Nachweis der Transpiration einzelner Blattstellen entwickelt. Das Blatt, etwa einer Topfrübe, wird mit dem schräggelegten Topf so auf dem Mikroskoptisch oder auch dem Tisch eines Binokulars orientiert, daß bei möglichst guter Belichtung (am besten Sonnenlicht) die Blattoberfläche plan aufliegt und im auffallenden Licht mit Lupenvergrößerung betrachtet werden kann. Das Blatt muß voll turgescent sein, die Spaltöffnungen offen. Nun wird auf die zu prüfenden Stellen ein Deckglas gelegt, welches durch Äther gekühlt wird. Mittels einer kleinen Pipette wird etwa 0,01 ccm Äther auf die Mitte des Deckglases aufgebracht und sofort mit einer Platinöse auf dem Deckglas gleichmäßig verteilt. Man muß, wegen der starken Verdunstung des Äthers, selbstverständlich schnell arbeiten. Stellt man jetzt sofort auf die Unterseite des Deckglases ein, so sieht man, wie der aus der Blattfläche unter dem Deckglas transpirierte Wasserdampf sich in winzigen Tröpfchen an dem kalten Deckglas kondensiert. Aus der Menge der Wassertröpfchen, die sich in wenigen Sekunden an der Deckglasunterseite niedergeschlagen haben, kann man die Intensität der Transpiration vergleichend feststellen. Auch mit Hilfe des Kobaltchlorürs lassen sich qualitative Unterschiede der Transpiration von kleinen Blattstellen bei vergleichender Beobachtung unter dem Mikroskop nachweisen. Es empfiehlt sich dabei, von der alten Stahl'schen Methode mit Kobaltchlorürpapier abzuweichen, da diese die feinen Unterschiede, besonders bei mosaikkranken Blättern, nicht mit Sicherheit erkennen läßt. Ich löste deshalb Kobaltchlorur in einem Gemisch von absolutem Alkohol und Äthyläther 1:1, fügte die tiefblaue Lösung zu einer Celloidinlösung hinzu und goß an trockenem Ort (niedrig geheizter elektrischer Trockenschrank) aus dem Kobaltchlorurcelloidin etwa 2 mm dicke Filme, die ich in kleine Würfel von 1 bis 2 mm Kantenlänge unter dem Binokular zerschnitt. Mit.zwei

feinen Nadeln wurden dann gleichzeitig unter Binokularbeobachtung je ein Würfelchen auf nebeneinanderliegende gesunde und mosaikkranke Flecke eines Rübenblattes aufgelegt. Durch die verschieden starke Transpiration der beiden Blattstellen werden die Kobaltchlorürwürfelchen verschieden schnell rot. Diese Zeitdifferenz in der Verfärbung der blauen Würfelchen über rot-violett zu rot war sowohl bei panaschierten Rübenblättern (panaschierte Stelle zu vollgrüner Stelle) wie bei mosaikkranken Rübenblättern (mosaikkranke Stelle zu gesunder Stelle) zu beobachten: stets ließ sich so an den grünen Blattfleckchen eine größere Transpiration nachweisen als an den panaschierten bzw. mosaikkranken Stellen.

Ich habe mich auch bemüht, quantitativ die Transpiration derartiger Blattstellen zu messen. Bei mosaikkranken Rübenblättern ist mir das bisher nicht gelungen, da die kranken Blattflächen zu klein und zudem sehr unregelmäßig in der Form sind, so daß eine solche winzige Fläche nicht zu erfassen war: mit albicaten Rübenblättern ist mir dagegen der quantitative Versuch gelungen. Ich benutzte zwei gleichaltrige kleine Blätter derselben Pflanze (Topfpflanze im Gewächshaus stehend), von denen das eine fast ganz albicat war, das andere normal grün. Die Methode war die folgende: Auf einen Glasring von 1,4 cm lichter Weite und 5 mm Höhe wurde mittels Kanadabalsam ein passendes Deckglas aufgekittet. In die so entstandene kleine Glaswanne kam eine gewogene Menge geglühten Kupfersulfates. Mittels eines schwach erwärmten dünnen Plastilinringes wurde je ein solches (flaskämmerchen unter das albicate und das hellgrüne Blatt luftdicht gekittet. Die Kämmerchen blieben 1 Stunde 35 Minuten unter den Blättern (11,10 bis 12,45 Uhr). Witterung war teilweise sonnig, Temperatur 22° C. Während des Versuches konnte man schon an der schneller zunehmenden Blaufärbung des CuSO, im Gefäßchen, das unter dem grünen Blatt saß, erkennen, daß dieses Blatt stärker transpirieren mußte. Die Rückwiegung der Glaskammer ergab denn auch eine größere Gewichtszunahme des CuSO, bei dem grünen Blatt. (Siehe Tabelle 2.)

### Tabelle 2. Transpirationsversuch.

Albicates und grünes Blatt einer Pflanze.

Größe der untersuchten Blattfläche: 155 mm².

Dauer des Versuches: 11,10 bis 12,45 Uhr — 1 Stunde 35 Minuten.

Witterung: teilweise sonnig, Temperatur: 22 ° C.

Geglühtes CuSO.

Albicat Grün
6,1250 g 6,1718 g
6,1821 g 6,1848 g
0,0071 g H<sub>2</sub>O 0,0130 g H<sub>2</sub>O

Transpiration auf 1 cm<sup>2</sup>

Albicat Grün
0,0046 g H<sub>2</sub>O 0,0084 g H<sub>2</sub>O

Es hatte somit der untersuchte Fleck des grünen Blattes fast das Doppelte des albicaten Blattfleckes in der gleichen Zeit transpiriert.

Unterschiede in der Atmung der kranken Rübenblatteile direkt nachzuweisen, die auf Grund der gestörten CO.- und Nitrat-Assimilation vorhanden sein müssen, war besonders schwierig hinsichtlich des mosaikkranken Blattes; Schwierigkeiten, die noch ungleich größer sind als bei der Feststellung der partiellen Transpiration von Blattfleckchen. Der qualitative Nachweis gelang durch die Feststellung differenter Abgabe von CO, auf folgende Weise bei mosaikkranken und albicaten Blättern: Barythydrat-Agar (es muß hierbei schnell und vorsichtig gearbeitet werden, um nicht schon durch die Kohlensäure der Luft eine größere Trübung des Agar zu erhalten) wurde kurz vor dem Erstarren in millimeterdünner Schicht auf die Blattunterseite gestrichen und sofort unter dem Mikroskop (nach vorheriger Verdunkelung des Blattes) beobachtet. Man kann, wenn der Barythydratagar klar genug ausgefallen ist, an dem Auftreten von verschieden starken Bariumkarbonatwolken im Agar über den erkrankten und den gesunden Blattstellen direkt sehen, daß die erkrankten Blattflecke weniger CO, abgeben.

Ein quantitativer Versuch ließ sich mit denselben beiden Blättchen der albicaten Topfpflanze durchführen, mit denen der quantitative Transpirationsversuch gelang. In diesem Falle wurden die ganzen Blättchen in einem kleinen Erlenmever eingeschlossen, in dem sich eine abgemessene Menge Barvtwasser (1/20 n) befand. Die Blattstiele wurden mittels mäßig erwärmten Plastilins in den Erlenmeverhals luftdicht eingekittet. Die ganze Pflanze wurde durch Überdecken mit einem schwarzen Tuch im Gewächshaus während des Versuches dunkel gehalten, um die Assimilation auszuschalten. Der Versuch lief von 12-14 Uhr, Temperatur 22° C. Das entstandene Bariumkarbonat wurde mit 1/100 nHCl titriert. Es ergab sich, daß in der Versuchszeit das grüne Blatt je Flächeneinheit eine um 25%, stärkere Atmungsintensität aufwies als das albicate Blatt. Auf 1000 qmm produzierte die grüne Blattfläche 5,6 mg CO2, die albicate Blattfläche 4,1 mg CO.

#### Tabelle 3. Atmungsversuch.

Dauer des Versuchs: 19	2—14 Uhr.	
	Albicat	Grün
Blattfläche	1050 mm <sup>2</sup>	790 mm <sup>2</sup>
	19,4 ccm	20,0 ccm
	0,23 cm	0,31 cm
	4,3 mg CO <sub>2</sub>	4,4 mg CO <sub>2</sub>
auf 1000 mm <sup>2</sup> .	4,1 mg CO <sub>2</sub>	5,6 mg CO <sub>2</sub>
	Weite der Spaltöffnungen:	
Albica	t	Grün ' '
3,1 µ	×	3,2 μ
, ,	(Apochromat 90, Okular 7.)	

Was die Herabsetzung der Assimilation in den albicaten und mosaikkranken Teilen des Rübenblattes betrifft, so klärt uns darüber die Stärkereaktion mit hinreichender Genauigkeit auf. Es ist nach Extraktion des
Chlorophylls, das ja in den albicaten Teilen fast ganz fehlt und in den
mosaikkranken immer nur in vermindertem Maße vorhanden ist, mittels
Jodalkohol (besser noch mittels Chloraljod) leicht zu erweisen, daß in
den albicaten Teilen stets die Stärke fehlt oder doch nur in Spuren vorhanden ist und in mosaikkranken Blattanteilen verminderte Stärkebildung
vorliegt, während die Chloroplasten in den gesunden Teilen albicater und
mosaikkranker Blätter mit Stärke vollgestopft sind.

Hatte Schumacher<sup>1</sup>) nachweisen können, daß bei Acer Negundo, Brassica oleracea und Cornus alba mehr Peroxydase und weniger Katalase in den panaschierten Teilen der Blätter vorhanden sind, so haben wir für das Zuckerrübenblatt hinsichtlich der Protease gefunden, daß Preßsaft aus albicaten Anteilen eine stärkere proteolytische Wirksamkeit gegenüber Casein aufwies, während ein Unterschied zwischen mosaikkranken und gesunden Teilen desselben Rübenblattes hinsichtlich ihrer proteolytischen Wirkung mit Sicherheit nicht festzustellen war.

Es zeigt sich also, daß der gesamte Stoffwechsel bei albicaten Rübenblättern stark gestört ist, und, was ohne weiteres nicht in dem Maße zu erwarten war, in ähnlicher Weise, nur graduell unterschieden, auch bei mosaikkranken Blattanteilen eines sonst ganz gesund aussehenden und normal wachsenden Rübenblattes verläuft: Assimilation, Nitrat-und Eiweißstoffwechsel, Transpiration und Atmung sind pathologisch verändert. Wir haben es hier mit einem partiell gestörten Blattapparat zu tun; Störungen. die sich nur in kleinen fleckenförmigen, aber sonst voll lebensfähigen Anteilen des Blattes auswirken, in Flächen von oftmals nur Millimeter Durchmesser, während unmittelbar daneben liegende Blattzonen gänzlich normal arbeiten. Es muß Aufgabe weiterer Forschung bleiben, zu ermitteln, wie diese zweifellos virusbedingte partielle Erkrankung der Blattfläche bei der Mosaikkrankheit der Zuckerrübe zustande kommt, insbesondere, warum zahlreiche Stellen des partiell erkrankten Blattes vollgesund bleiben, und wie es kommt, daß das Virus streng lokal protoplasmatisch fixiert wird und nur an diesen ganz beschränkten Stellen zur Wirkung gelangt, nachdem es durch das ganze Blatt gewandert ist.

<sup>1)</sup> Schumacher, Ein Beitrag des Stoffwechsels panaschierter Pflanzen. Planta, 1928. Bd. V. Abt. E. S. 161.

## Aus dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Leipzig.

## Einfacher Nachweis von Hyphen parasitärer Pilze im Halm der Gramineen.

Von

Dr. Gerhard Stelzner.

Mit 5 Textabbildungen.

Bei den Untersuchungen über die pilzlichen Krankheitserreger der Gramineen ist es oft notwendig, das Myzel innerhalb der Wirtspflanze nachzuweisen. Bislang ließen sich die Pilzfäden nur durch sehr umständliche Methoden auffinden (Brefeld, 2, Lang, 3). Bei meinen mikroskopischen Untersuchungen beobachtete ich, daß die Hyphen häufig in

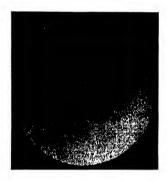


Abb. 1.
Halmmyzel von Tilletia tritici.
Vergr.: 60 fach.



Abb. 2. Halmmyzel von *Ustilago tritici*. Vergr.: 70 fach.

dem parenchymatischen Markgewebe oberhalb des Halmknotens vorkommen, wo sie durch die beim Schossen eintretende Zellteilung und -streckung gedehnt und schließlich zerrissen werden. Auf dem häufigen Vorkommen der Hyphen am Halmknoten fußt folgende einfache Methode zu ihrem raschen Auffinden im Gewebe der Wirtspflanze.

Halme kranker Pflanzen werden so zerschnitten, daß unterhalb des Halmknotens ein bis zwei und oberhalb noch ungefähr 4 cm des Internodiums erhalten bleiben. Nachdem diese einschließlich des Knotens höchstens  $6^{1}/_{2}$  cm langen Halmteile mit einer Rasierklinge in zwei oder drei Teile längs gespalten worden sind, werden sie zur Beseitigung der anhaftenden Luft und zum Fixieren in absolutem Alkohol unter der Wasserstrahlpumpe evakuiert und dann gefärbt. Am geeignetsten ist

Baumwollblau (Vogt, 8). Die Hyphen erscheinen dunkelblau, während die Zellen der Wirtspflanze nur schwach gefärbt werden. Sind die Pilzfäden besonders auf ihre Kernverhältnisse zu untersuchen, so eignet sich eine Lösung von Hämatoxylin (Strasburger-Koernicke, 7). Diese

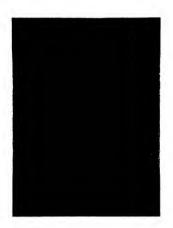


Abb. 3. Halmmyzel von *Ustilago hordei* Vergr.: 60 fach.

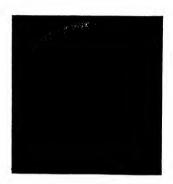


Abb. 4. Halmmyzel von *Ustilago nuda*. Vergr.: 130 fach.

färbt aber zugleich die Wirtszellen stärker, so daß der Pilz schwerer aufgefunden werden kann. Nach genügender Färbung werden die einzelnen Halmteile aus der wässrigen Lösung herausgenommen und mit der rechten Hand über den linken Zeigefinger gebogen, so daß das Innere des Halmes

noch oben zu liegen kommt. Das Halmparenchym wird nun mit einem scharfen Messer ungefähr 1/2 cm oberhalb des Knotens abgeschabt und mit einer Pinzette bis zum Halmknoten hin abgezogen, wobei es darauf ankommt, möglichst dünne Gewebehäutchen abzustreifen Diese werden nun sofort in Glyzerin auf dem Objektträger eingebettet. Etwas störend sind die gelegentlich auftretenden Luftblasen. Verhältnismäßig leicht lassen sich diese beim Einbetten in Canadabalsam entfernen. Das Verfahren wird aber dann sofort umständlicher, da nach der Färbung das Wasser wieder entfernt werden muß (Schneider, 5). Außer den grünen

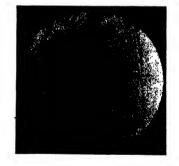


Abb. 5. Halmmyzel von *Ustilago avenae*. Vergr.: 560 fach.

Halmen lassen sich auch Strohteile verarbeiten, bei denen aber die Luft schwer zu beseitigen ist. Kommt es auf den Nachweis von Brandmyzel in diesen abgestorbenen Halmen an, so stört der bisweilen vorhandene Schimmel.

Die Hyphen von Weizensteinbrand sind schmal und langgestreckt, selten kommen einzelne Fäden vor, die dann sehr schwer zu erkennen sind; bisweilen werden Myzelstränge angetroffen, in denen die einzelnen Hyphen wie verflochten erscheinen. Diese Stränge können Zellreihen des Halmparenchyms fast vollständig ausfüllen, werden mit zunehmender Entfernung vom Knoten schwächer und enden schließlich. Die Längswände der Wirtszellen sind seltener vom Myzel durchwachsen. Ustilago tritici. Ustilago nuda, Ustilago hordei, wie auch Ustilago avenae sind im Myzel ähnlich. Ihre Hyphen wachsen in den meisten Fällen an der Längswand der Wirtszelle, schließlich an der Querwand entlang und bilden, indem sie sich hier oft verstärken, einen eigenartigen Haken. Durch die Teilung und Streckung der Wirtszellen werden die Pilzfäden häufig zerrissen, so daß Teilstücke der Hyphen an den Längswänden über mehrere Zellen reihenartig verteilt sind. Die Pilzfäden sind im Gegensatz zu Tilletia tritici nicht langgestreckt, sondern knorrig und stark gewunden. Bei Ustilago avenae konnten auch Gemmen im Halme beobachtet werden, wie sie innerhalb der Blüte vorkommen (Arland, 1). Das Myzel von Helminthosporium gramineum ist leicht im Halme aufzufinden, da es stark infolge der günstigen Wachstumsbedingungen im Markparenchym verbreitet ist (Stelzner. 6).

Die angeführte Methode ermöglicht auf einfache Weise das Auffinden der wichtigsten, innerhalb der Wirtspflanze lebenden Pilze, zugleich lassen sich auch rasch Kernstudien an den Zellen dieser Parasiten vornehmen. Von Bedeutung ist, daß dieses Verfahren einen einfachen Weg eröffnet, den latenten Befall bei den Gramineen zu verfolgen (Zade. 9, 10), da sich leicht Massen-Untersuchungen durchführen lassen.

#### Literatur.

- 1 Arland, A.: Der Haferflugbrand, Ustilago avenae Jens. Biologische Untersuchungen mit besonderer Berücksichtigung der Infektions- und Anfälligkeitsfragen. Botanisches Archiv, 7. Bd., 1924, S. 70—111.
- 2 Brefeld, O.: Untersuchungen auf dem Gesamtgebiete der Mykologie. 11: Heft, 1895; 15. Heft, 1912.
- 3 Lang, W.: Zum Parasitismus der Brandpilze. Jahresbericht der Vereinigung für angewandte Botanik, 10. Jahrg. 1912, S. 172-180.
- 4 Lang, W.: Über die Beeinflussung der Wirtspflanze durch Tilletia tritiei. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, 27. Bd., 1917, S. 80-99.
- 5 Schneider, H.: Die botanische Mikrotechnik. Jena 1922.
- 6 Stelzner, G.: Experimentelle Untersuchungen über den die Gerstenstreifenkrankheit hervorrufenden Pilz Helminthosporium gramineum Rbh. unter besonderer Berücksichtigung seiner Infektionsvernältnisse. Botanisches Archiv, 36. Bd., 1934, S. 301-343.
- 7 Strasburger-Koernicke: Das botanische Praktikum, Jena 1921.
- 8 Vogt, E.: Ein Beitrag zur Kenntnis von Helminthosporium gramineum Rbh. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstw., 11. Bd., 1923, S. 387-397.
- 9 Zade, A.: Der latente Befall und seine Folgeerscheinungen mit Bezug auf Sortenimmunität und Beizwirkung. Fortschritte d. Landwirtschaft, 6. Jahrg. 1931, S. 388-391.
- 10 Zade, A.: Neue Untersuchungen über den latenten Pilzbefall und sein Einfluß auf die Kulturpflanzen. Fortschritte der Landwirtschaft, 7. Jahrg. 1932, S. 529-532.

# Su di una tracheomicosi dell'amaranto (Amarantus tricolor L.) prodotta da una specie di Fusarium e da Verticillium amaranti n. sp. e, in genere, sulla biologia di alcuni Verticillium patogeni.

Per

#### O. Verona e A. Ceccarelli.

Mit 13 Textabbildungen.

Generalità sulle tracheoverticilliosi. — Caratteri esterni della malattia e rilievi anatomopatologici. — Isolamento delle forme patogene: il Fusarium sp. e il Verticillium amaranti n. sp. — l'atogenicità e rilievi eziologici. — Indagini tossicologiche nei particolari
riguardi di Verticillium amaranti n. sp. — Ricerche sulla biologia di alcuni Verticillium
patogeni: influenza della reazione del mezzo e punto isometabolico; influenza della temperatura; influenza della sorgente alimentare; influenza di alcune sostanze chimiche. —
Riassunto e conclusioni. — Lavori citati.

#### Generalità sulle tracheoverticilliosi.

E' opera specialmente di questi ultimi tempi l'avere rilevato la grande importanza economica delle adromicosi le cui conoscenze sempre più si vanno estendendo e completando.

A parte l'antica segnalazione, non da altri sicuramente confermata, di Müller-Thurgau (42, 43) che attribuì al parassitismo di *Pseudopeziza tracheiphila*, il cui micelio invaderebbe i vasi delle foglie, il seccume rosso della vite, i casi più gravi di tracheomicosi sono riportabili all'invasione di fungilli riferibili ai generi *Fusarium*, *Alternaria*, sopratutto *Verticillium*, ai quali da non molto si sono aggiunte specie di *Graphium* e di *Deuterophoma*.

La prima segnalazione relativa al parassitismo del genere Verticillium apparì, come è ben noto, nel 1879 ad opera di Reinke e Berthold (48) che descrissero Verticillium albo-atrum quale causa di una particolare affezione delle patate. Nel 1904 Van Hook (28) descrisse un altro caso di tracheomicosi in Panax quinquefolium e l'attribuî alla presenza di Acrostalagmus albus Pr.

A queste prime segnalazioni altre fecero seguito nel mentre che veniva discussa la probabile identità sistematica dei due vicini generi Verticillium e Acrostalagmus. Il genere Verticillium fu creato da Nees von Esenbeck nel 1816 e il genere Acrostalagmus nel 1838 da Corda; le differenze generiche per le quali quest'ultimo genere si staccherebbe dal

primo sono note e consistono, sopratutto, nel fatto di presentare, il gen. Acrostalagmus, spore aggregate e conglutinate in una massa mucosa all'apice dei ramuli conidiogeni.

Hoffman (27) avanzò per il primo, nel 1854, l'ipotesi che non esistessero sostanziali differenze tra i due generi, e Carpentier (11) in seguito sviluppò tale ipotesi che trova anche appoggio, del resto, nell'identità del loro comportamento parassitario. Un lavoro di revisione generica e specifica sufficientemente esauriente manca tuttavia per dare l'ultima conferma a tal modo di vedere; ad ogni modo, il concetto che oggi preyale, è quello di includere Acrostalagmus entro Verticillium.

Dopo la prima segnalazione di Reinke e Berthold non si ebbe più menzione della patogenicità del gen. Verticillium fino al 1907 epoca in cui Aderhold (1) descrisse, - attribuendone la causa ad un Verticillium sp. — una tipica malattia sul ribes e sull'uva spina. Nel 1907 nel 1908 Appel (2) e nel 1909 Störmer (55), Appel e Wollenweber (3), riportarono al parassitismo di Verticillium l'avvizzimento delle patate in Germania. Analoga malattia fu segnalata da Pethybridge (45) in Irlanda e successivamente in tutti gli altri paesi compreso l'Italia (14). Nel 1913 Klebahn (30) isolò un Verticillium da dalie, lo ritenne diverso da Verticillium albo-atrum e lo denominò Verticillium dahliue; van der Meer (38), Berkeley e Jackson (5), e Dufrenov (20) ne confermarono l'entità specifica. Nel 1921 Wollen weber (60) isolò da piante di lupino Verticillium angustum n. sp. Foex (21), più tardi, nel 1923, da tuberi di patata ottenne una forma non identificabile con Verticillium albo-atrum ed istitui la specie di Verticillium Duboys chiamata (1928) da van Beyma Thoe Kingma (7) Verticillium foexii. Curzi (12, 13), nel 1925. segnalò Verticillium trachciphilum n. sp. quale causa dell'avvizzimento dei peperoni. Nel 1926 Berkeley e Jackson (5) isolarono da Rubus sp. Verticillium ovatum, specie identica, secondo Dufrenov (20), a Verticillium dahliae. Molto più recentemente, infine, tralasciando di considerare una segnalazione di Sartory e Meyer (52) che descrivono un Verticillium n. sp. parassita dei ragni e che non assume dal nostro punto di vista particolare interesse, Ware (59) descrive (1933) Verticillium Malthousei n. sp. quale agente di malattia in funghi coltivati.

Accanto alla descrizione di tali Verticillium patogeni numerose segnalazioni di tracheoverticilliosi hanno avuto luogo in piante appartenenti a famiglie o generi diversi; le specie rinvenute o isolate non sempre però vennero sistematicamente studiate quando addirittura non fu trovato agevole di identificarle con Verticillium albo-atrum.

Una lunga serie di piante suscettibili di essere attaccate, e riportata da Rudolph (51<sup>1</sup>) in una voluminosa rassegna in materia, lascia emergere

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>) In tale lavoro potfà trovarsi tutta la letteratura, comprendente 829 citazioni, fino al<sup>2</sup> 1929.

come le famiglie più attaccate siano le Composite, le Rosacee e le Solanacee. Dal punto di vista agrario tra le piante erbacee soggette a maggior danno debbonsi annoverare la patata, il pomodoro, il tabacco, il peperone, il carciofo, mentre tra le piante legnose in primo piano appaiono le piante fruttifere specie quelle a nocciolo, indi l'olmo e l'acero. Per quanto si riferisce all'amaranto non c'è che una segnalazione di Rudolph (51) il quale isolò, nel 1925, un Verticillium sp. da Amarantus retroflexus L.

In Italia la prima segnalazione di tracheoverticilliosi si deve al Curzi (12, 13) che descrisse (1925) un particolare avvizzimento da Verticillium del peperone e della melanzana; lo stesso, poi, nel 1926 rinvenne Verticillium albo-atrum in patata (14), e nel 1930 (15) altre verticilliosi segnalò su carciofo, pomodoro, Fatsia japonica Dr. et Pl., Impatiens Balsamina L., Prunus Armeniaca L., Prunus domestica L. Nel 1932 Goidanich (25) avvisò deperimenti da Verticilli in Acer campestre L. e Acer platanoides L., Calycanthus praecox L., Euphorbia sp., Koelreuteria paniculata Lk., Lonicera biflora Desf., Papaver Rhoeas L., Phlox sp.

#### Caratteri esterni della malattia e rilievi anatomo-patologici.

Il materiale di studio ci fu molto gentilmente procuranto dal Prof. C. Borri dell'Istituto di Zoologia della R. Università e proveniva dai Bagni di Casciana distante da Pisa una trentina di chilometri, in collina. Trattavasi di Amarantus tricolor L. e, come ci avvertì lo stesso Prof. Borri, le piante non dimostravano segni preiniziali di malattia all' infuori di un pronto appassimento a cui seguiva, subito, la morte. Le piante, che si ripiegavano su se stesse, si lasciavano allora svellere facilmente e mostravano un apparato radicale profondamente alterato sino al colletto e invaso da numerosi miceli fungini; nelle piante, in cui la infezione era iniziale, le radici non mostravano affatto evidenti segni di alterazione.

Sia il fittone, che il fusto, recisi trasversalmente presentavano la zona dei vasi leggermente imbrunita; in sezione l'imbrunimento della parete dei vasi era evidente e talvolta essi si mostravano pieni di sostanze gommose come di sottili filamenti micelici: il numero dei vasi imbruniti era però notevolmente superiore a quello dei vasi contenenti micelio. Proseguendo nel taglio, anche nelle parti del fusto distanti dal colletto erano rinvenibili analoghe alterazioni.

Il micelio, quando era presente, si rinveniva nelle trachee si delle radici che del caule, ma non nel floema, nel cambio e nel tessuto fondamentale attiguo ai vasi.

#### Isolamento delle forme patogene.

La presenza del micelio entro i vasi delle piante colpite ci suggerì che la denunciata malattia degli amaranti dovesse ascriversi al gruppo

delle tracheomicosi e, per stabilire la natura del parassita, ponemmo il materiale alterato in camera umida.

Non occorse molto tempo perchè all'esterno si ottenessero ricche vegetazioni di *Fusarium* mentre all'interno, i reperti istologici relativi alla zona vasale colpita, ci dimostrarono che il micelio contenuto nei vasi si andava pian piano estendendo fino a confluire e confondersi attraverso la zona corticale con le vegetazioni esterne. Ripetuti esami ci lasciarono intravedere, tra queste, tipiche fruttificazioni di *Verticillium*, fruttificazioni

non osservate all'esterno, nel materiale fresco e in quello da poco tempo posto in camera umida.

Ciò lascia pensare, in analogia a quanto osservò Klebahn per le dalie e Curzi per i peperoni, che il micelio dei vasi possa invadere tutti i tessuti del caule solo quando essi sono alterati e non in condizioni di porre resistenza: le vegetazioni intravasali del fungo entrerebbero quindi nelle cellule adiacenti morte, e non in quelle vive e il fungo, in questo stadio, non apparirebbe avere i caratteri di un parassita aggressivo.

Tutto questo ci ha lasciato pensare in un primo momento che le fruttificazioni esterne riferibili, come è stato detto, ad un *Fusarium* non avessero alcuna relazione con l'eziologia del male ma che questa dovesse ricercarsi nella constatata presenza del *Verticillium*.

L'isolamento di questo non mostrò alcuna difficoltà. All'uopo prelevammo dalle parti ammalate, previamente lavate con acqua e sterilizzate con sublimato 1:1000, parte di tessuti alterati. Con questi, passati in brodo peptoglucosato per 24 ore, allestimmo piastre all'agar-fagiuoli ottenendo colonie di

un Verticillium costantemente presente nelle numerose prove, che fu agevole di isolare.

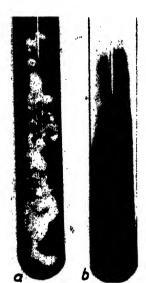


Fig. 1.

Verticillium

amaranti n. sp.
a) coltura di 7 giorni
b) coltura di 30 giorni

#### Il Fusarium sp. e il Verticillium amaranti n. sp.

Con il verticillio, non abbiamo trascurato di isolare anche il Fusarium onde accertarsi se, per caso, non corrispondesse a Fusarium vasinfectum Atk. nota specie tracheifila e, ad ogni modo, per fissare i suoi principali caratteri morfologici.

Le caratteristiche rilevate e il confronto con ceppi tipici esistenti nella nostra collezione ci permisero infatti di avvicinare il ceppo in esame a Fusarium vasinfectum. Il fatto di rinvenire, con il Fusarium, Verticillium sp., ei dette l'impressione, in analogia alle osservazioni di Fuchs (22) e

altri, che si trattasse di due forme legate metageneticamente; se così fosse stato, però, dal ceppo di *Verticillium* avremmo dovuto ottenere, in qualcuna almeno delle condizioni provate e dopo vari passaggi in substrati diversi, fruttificazioni di *Fusarium*, il che non avvenne trascorso un anno dall'isolamento ed eseguiti numerosi trapianti.



Fig. 2. Verticillium amaranti n. sp. fotogramma di microcoltura (ingr. 100).



Fig. 3.

Ife toruloidi di Verticillium amaranti n. sp.
da vecchia coltura
(ingr. 500).

La nota difficoltà della determinazione specifica dei Fusarium ci suggerì di non approfondire la ricerca della sua esatta posizione sistematica pur convenendo di farlo rientrare, per il complesso dei suoi caratteri, nel gruppo di Fusarium vasinfectum Atk.

Il ceppo di Verticillium isolato forma, su agar fagiuoli saccarato, una vegetazione da prima effusa, sottile, bianca (Fig. 1,a) di abbastanza rapida crescita rappresentata da micelio tipico dal quale si originano fruttificazioni generiche; in seguito l'aspetto della coltura cambia notevolmente: appare bruna, crostosa (Fig. 1,b) costituita da micelio ed aggregati toruloidi nei quali la prima vegetazione si risolve.

Negli altri substrati l'aspetto della coltura non è diverso: al più notasi, in alcuni, una più rapida formazione di micelio bruno.

La vegetazione tipica è costituita da micelio esile, jalino, settato su cui si inseriscono le ife fruttifere rappresentate da un ramo principale leggermente assottigliato all'apice e da ramuli disposti a verticillo ciascuno dei quali porta, all'estremità, un capolino di spore jaline, ellittiche, continue. Il primo verticillo, che dista dall'apice del conidioforo  $\mu$  26—38, è formato da 3—4 ramuli lunghi  $\mu$  24—32; al primo verticillo segue un secondo, a

volte un terzo, generalmente ridotto, quest'ultimo, ad un solo ramulo: nel complesso, il conidioforo misura  $\mu$  150—180.

Cionondimeno, secondo l'età della coltura e, sopratutto, il substrato, la fruttificazione generica non sempre è evidente assumendo l'aspetto, a volte, di *Cephalosporium* (Fig. 2). Le spore, continue, jaline, ellittiche, sono di solito biguttate od anche monoguttate, di  $\mu$  3-3,2  $\times$  4,8-6,4, riunite in glomeruli di  $\mu$  12-14, di facile germinazione.

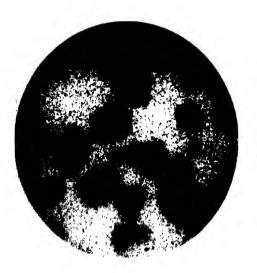


Fig. 4.
Formazioni pseudoscleroziali in una vecchia coltura di *Verticillium amaranti* n. sp.
(Ingr. 47.)

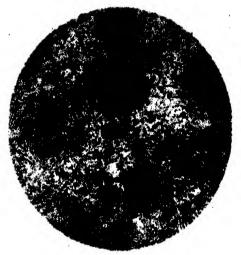


Fig. 5. Come in Fig. 4 a più forte ingrandimento. (Ingr. 100.)

Con il tempo la vegetazione si trasforma con la comparsa di un micelio bruno, toruloso, con cellule tondeggianti di  $\mu$   $6.4 \times 9.6$  (Fig. 3) costituente speciali ammassi simili a formazioni scleroziali (Fig. 4 e 5). Tuttavia, tali formazioni non assumono il valore di veri e propri sclerozi. Guardate con sufficiente ingrandimento esse appaiono più che altro dei semplici e lassi aggregati di micelio toruloide: oltre che in Fig. 4—ingr. 47 diam. — sono rappresentati in Fig. 5 — ingr. 100 diam. — che è istruttivo di comparare con la Fig. 6 che rappresenta, ad uguale ingrandimento, vere e proprie formazioni scleroziali (Verticillium tracheiphilum Czi).

Come è stato premesso, dopo la prima segnalazioni di Reinke e Berthold (48) altre specie di *Verticillium* si sono venute istituendo ma di esse non tutte sono state esaurientemente descritte.

D'altra parte, molti Autori, hanno riferito a Verticillium albo-atrum ceppi aventi caratteri non perfettamente collimanti con la specie tipo tanto da far pensare che essi si siano trovati di fronte a varietà di esso se non

a specie diverse. Ne dà esempio la Tab. I ove sono riportati i principali caratteri di ceppi descritti come Verticillium albo-atrum.

Nella Tabella II, invece, riportiamo un prospetto (desumendolo in parte da Rudolph) dei principali caratteri delle più importanti specie di *Verticillium* patogeni.

Senza scendere ad una discussione specifica, l'esame del presente quadro e, più ancora, le originali diagnosi, ci permettono di definire la posi-

zione sistematica della specie in esame che, per ogni maggiore accertamento, abbiamo confrontato a mezzo di colture parallele con le specie meglio note, quali Verticillium albo-atrum (ceppo Curzi), Verticillium dahlie (proveniente dal R. Lab. Critt. di Pavia), Verticillium trachciphilum (inviato dal Professor M. Curzi). Tale esame ci ha convinti che il Verticillio isolato dall' amaranto debba riguardarsi, almeno per il momento, come specie a sè stante, e, per ricordarne la provenienza, lo denominiamo.

Verticillium amaranti n. sp.

In vivo, micelium hyalinum, subtile, intratracheale; in plantis emortius

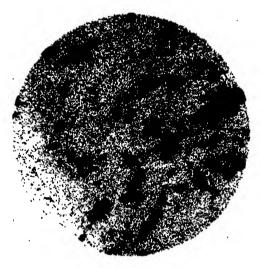


Fig. 6. Sclerozi di Verticillium tracheiphilum Czi. (Ingr. 100.)

effusum. In colturis, vegetatio primum alba, tenuis, effusa, deinde bruno-nigra, crustacea.

Conidiophoris hyalinis, simplicibus, 2—3 verticillatis, rarius non-verticillatis,  $\mu$  150—180 = 2—3; ramulis verticillatoternis v. quaternis, apice attenuatis,  $\mu$  24-32.

Conidiis, ramulorum apice conglobatis in capitula globosa  $\mu$  12—14, ellipsoideis, biguttulatis, raro monoguttulatis, hyalinis, continuis,  $\mu$  3—3,2 = 4,8—6,4; clamidosporis olivaceo-nigris,  $\mu$  6,4=9,6, catenulatis v. conglobatis pseudo-sclerotia formantibus.

Hab. in caulibus et radicibus Amaranti tricoloris in Italia centrale.

#### Patogenicità e rilievi eziologici.

Per avere la prova sperimentale dell'azione parassitaria delle specie isolate eseguimmo tra la fine di giugno e tutto luglio delle infezioni artificiali su amaranti sani all'uopo coltivati e su piante di Sempervivum tectorum L. disponendone di un certo numero.

٠.
బ్
0
æ
-
_
b
-

Verticillium albo-atrum V. dahliae V. tracheiphilum V. Duboys V. ovatum V. ovatum V. angustum V. Malthousei V. sp.	Specie		Verticillium albo-atrum id. ceppo 1717 id ceppo 2784 id ceppo 2985 id. ceppo 1685	Specie
R. et B. Klebahn Curzi Foëx Berkeley e Jackson Wollenweber Ware Czarnecki	Autore		R. et B. Carpentier Carpentier Carpentier Carpentier Carpentier	Autore
Patata 5 -12 = 3 Dalia 4.7 - 7 = 1.5 Peperone 3.5 - 5 = 2 Patata 5.6 - 11 = 3 Lampone 2.7 - 6.2 = 1.2 Albicocco 6.7 - 11.2 = 2.2	Provenienza		Patata Ibisco Patata Bocca di Leone Melanzana	Provenienza
	Conidi misure limiti μ	Tabella II.	5 -12 =3 5.1-11 =3 4.2 - 9.3=1.7-4.2 51-8.5=2.1-4.2	Conidi misure limiti $\mu$
-   -   50   5   50   5   50   5   50   5   5	medie		6.8 = 2 4 6.4 = 2.4 6.5 = 2.6	medie
	Selerozi misure limiti		21 – 91 31 – 70 28 – 70 31 – 87	Sclerozi misure limiti
50 	medie		34 · 44 45 — 54 39 — 57 51 — 51	medie $\mu$
5-6 5-12 5-12 4-10	Clam misure limiti		7-10 5-10 3-15	Clammisure limiti
. 6.7	Clamidospore vire medie ti μ		8.4=8.7 8.2=8.2 7.3=9.4	Clamidospore ure medie ti

Prima ancora, o contemporaneamente, infettammo con colture di Verticillium amaranti n. sp. piante sane di patata, di pomodoro, di dalie al fine di poter vedere se, tale specie, esercitasse una qualche azione patogena anche per queste piante. L'infezione veniva eseguita, in queste prove come nelle altre, introducendo un pò di coltura del fungo sotto la corteccia attraverso una leggera e non profonda ferita praticata alla base del fusto. Il tratto dell'inoculazione veniva prima disinfettato con soluzione di sublimato corrosivo, ed eseguito l'innesto la ferita veniva protetta con un batuffolo di ovatta sterile mantenuta umida.

Le infezioni con Verticillium su patata, pomodoro e dalia ebbero esito negativo avvalorandosi con ciò, indirettamente e senza meno dal punto di vista parassitario, la non identità della nostra specie con Verticillium albo-atrum e Verticillium dahliae.



Fig. 7.

Infezione artificiale di Amarantus tricolor L. eseguita il 29
giugno e fotografata il 19 luglio 1934.

(Nel centro pianta non inoculata, a sinistra inoculata con Fusarium sp.
a destra con Verticillium amaranti).

Le infezioni, invece, eseguite su amaranto (Amarantus tricolor L.) ebbero esito positivo e non soltanto a seguito dell'innesto di Verticillium ma anche (il fatto è degno di rilievo) in conseguenza dell'infezione con Fusarium. Grandi differenze nel comportamento parassitario delle due forme non fu notato. In Amarantus tricolor si ebbe, alla distanza di 12--15 giorni dall'inoculazione, un manifesto appassimento delle foglie le quali si presentavano facili al distacco e alla caduta: indi la pianta con le foglie completamente appassite o secche o cadute, ripiegavasi su se stessa.

Anche su Sempervivum tectorum l'esito delle inoculazioni fu positivo: ancora si verificò un evidente rallentamento nello sviluppo e così il fogliame dopo 15—20 giorni andò soggetto all'appassimento e la pianta a rapida morte.

I risultati di queste esperienze non soltanto direttamente ci hanno fornito la prova della patogenicità del Fusarium e del Verticillium permettendoci di poter stabilire, in queste specie, gli agenti eziologici della malattia: ma inoltre, indirettamente, hanno contribuito a chiarire, con nuovo esempio, quei tipi di morbi che uno di noi (Verona 58) ebbe a

qualificare "ad eziologia multipla" e nel quale gruppo la malattia studiata, sembra appunto rientrare, potendosi ammettere dovuta all'una o all' altra specie od anche a tutte e due agenti simultane amente.

Del resto, non sarebbe neppure la prima volta che da casi di tracheomicosi sia in patata, cotone o altre piante, vengano isolati, insieme, Fusarium e Verticillium. Segnalazioni in materia non mancano, per finire, senza ricordare le altre, con quella ultima, a quanto ci é noto, di Miles e Persons (40) che isolarono da piante di cotone, Fusarium vasinfectum e Verticillium albo-atrum.



Fig. 8.

Infezione artificiale su Sempervivum tectorum L. eseguita il 30 giugno e fotografata il 19 luglio 1934.

(Nel centro pianta non inoculata, a sinistra inoculata con Fusarium sp., a destra con Verticillium amaranti.)

#### Indagini tossicologiche nei riguardi di Verticillium amaranti n. sp.

Il meccanismo per il quale i funghi tracheifili in genere e i Verticilli in specie determinano la loro azione patogena non risulta ancora bene chiarito e al riguardo, in possibile coesistenza fra loro, varie teorie si sono andate formulando.

Una delle prime è quella che attribuisce l'appassimento e la morte della pianta a trombosi, sia essa dovuta a eccessivo sviluppo di micelio ostruente i vasi come a presenza di sostanze gommose o a esuberante formazione di tilli. Tale modo di vedere trova appoggio in numerose osservazioni; a risalire da Reinke e Berthold (48), di Klebahn (30), Dowson (18), van der Lek (33, 34), van der Meer (37, 38, 39), Pethybridge (45), ecc.; i quali avrebbero rinvenuto lungo le trachee e le tracheidi ammassi di ife e forme scleroziali. D'altra parte gli stessi Autor ed altri hanno anche accertata, accanto ad una rilevante formazione di tilli,

presenza di sostanze gommose colorate in bruno e dovute, certamente, allo stimolo del parassita. Tuttavia, le ammesse trombosi non risulta chiaro se debbano riferirsi ad una o piuttosto ad un'altra di queste cause; vero-similmente esse non si escludono a vicenda e, forse, si completano.

Accanto a questa teoria v'è quella tossicologica facente capo a Bewley (6), Dowson (17), Picado (47) e altri e a Dufrenoy (20). I primi ammettono che il parassita elabori particolari tossine (eso- ed endotossine); ed in effetti, inoculazioni eseguite con filtrato sterile dei liquidi colturali e con liquido sterile proveniente dalla triturazione delle coperte miceliche hanno dato risultati positivi con morte rapida delle pianta. Per Dufrenoy (19) e, molto più tardi, per van der Veen (57), la tossicità non risiederebbe nella formazione di tossine ma, in analogia a quanto fu formulato da Rosen (49, 50) per Fusarium vasinfectum, nella accertata produzione di nitriti.

Una più equilibrata interpretazione del meccanismo parassitario dei funghi tracheifili è quella esposta da Curzi. Egli trova intanto non sostenibile che queste malattie siano dalle vere e proprie trombosi dato che il numero dei vasi è spesso molto esigno; neppure crede di poter ammettere una tanto facile e sollecita diffusione a distanza delle tossine del fungo lungo i vasi nel senso longitudinale, capitando sovente di osservare che l'appassimento non si avverte anche quando la parte inferiore del ramo o del fusto presenta molti vasi imbruniti e ripieni di gomma. Secondo Curzi l'azione tossica spiegata dal parassita, come l'infezione micelica, rimane circoscritta allo xilema e la causa principale dell'appassimento del fogliame e quindi della morte della pianta deve ricercarsi nella intossicazione delle cellule vive del legno e quindi nella sensibile diminuzione della forza di sollevamento di questi elementi viventi che secondo Kosaroff (32), Janse (29), Montemartini (41) e altri hanno una parte preminente nel fenomeno della ascesa dell'acqua nelle vie acquifere.

Tale modo di vedere, che è anche il più semplice e il più logico, è perfettamente condiviso da noi.

Ad ogni modo, anche a maggiore illustrazione di Verticillium amaranti, abbiamo voluto accertare la formazione di nitriti da parte di questo, comparativamente ad altri ceppiquali Verticillium albo-atrum, Verticillium dahl ae, Verticillium tracheiphilum ed una specie ambientale isolata da acqua di condottura identica probabilmente ad Acrostalagmus cephalosporioides di Peyronel.

In ogni caso, dopo 15-20 giorni nei substrati colturali ove la sorgente azotata era rappresentata da nitrato potassico, e non ove a questo era sostituito in quantità equimolecolari solfato ammonico, si avvertiva sensibile, con la reazione di Griess, la reazione dei nitriti.

Le prove tossicologiche furono invece limitate al solo Verticilium amaranti provando, con i prodotti reflui del suo metabolismo, la germinazione di semi sia di amaranto che di altre specie.

Riferiamo le singole esperienze.

Esp. nº 1. Liquido colturale costituito da:

1			 	 
nitrato potassico.				10
saccarosio				20
fosfato bipotassic	0			1
cloruro di calcio.				0.3
solfato di magne	sic	)		0.3
cloruro sodico				0,1
cloruro ferrico				0,01
acqua distillata .				1000 —

Dopo un mese di coltura il liquido venne passato al Chamberland e in presenza di esso, in adatti germinatoi, furono posti a germinare i semi. Dopo 10 giorni ottenemmo:

Tabella III.

Numero di semi germinati in	Frumento	Erba medica	Trifoglio	Amarantus tricolor	Amarantus caudatum
Controllo Liquido colturale	97	98	98	89	93
	2	6	9	2	0

L'esperienza dimostra che i prodotti elaborati dal fungo e diffusi nel mezzo colturale impediscono la germinazione dei semi.

Esp. nº 2. Come l'esperienza precedente, ma il filtrato allo Chamberland fu fatto bollire per dieci minuti. I risultati sono riferiti in Tabella IV.

Tabella IV.

Numero di semi germinati in	Frumento	Erba medica	Trifoglio	Amarantus tricolor	Amarantus caudatum
Controllo Liquido colturale cotto	97	98 4	98 3	89 0	93 1

Evidentemente, tali prodotti non sono di natura termolabile. Esp. nº 3. Come le esperienze precedenti, ma il filtrato venne sbattuto con terra e nuovamente filtrato.

Ottenemmo:

Tabella V.

Numero di semi germinati in	Frumento	Erba medica	Trifoglio	Amarantus tricolor	Amarantus caudatum
Controllo	. 97	98	98	89	93
	97	95	94	85	90

La terra, che era prevalentemente argillosa, trattenne forse per fenomeni di adsorbimento i materiali tossici.

Esp. nº 4. La coperta fungina di un mese di coltura venne a lungo triturata con fine sabbia silicea in un mortaio. Il contenuto fu estratto con acqua e filtrato al Chamberland. Contammo, al 10º giorno, il seguente numero di semi germinati:

Tabella VI.

Numero di semi	ge	rm	ina	ti	in	Frumento	Erba medica	Trifoglio	Amarantus tricolor	Amarantus caudatum
Controllo Succo miceliare						97 97	99 96	97 98	91 87	94 91

L'estratto miceliare non si dimostrò, adunque, tossico.

Esp. nº 5. I risultati delle ricerche precedenti ci hanno indirizzato a ricercare la natura dei prodotti tossici elaborati dal fungo. E ciò abbiam fatto eseguendo la tecnica già adottata, in ricerche congeneri, da Pantanelli (44). Fu coltivato Verticillium amaranti in gelatina semifluida e, dopo un mese di coltura, tolta la membrana micelica, il substrato fu diviso in cinque porzioni. Una prima fu precipitata con alcool al 70%, e ridisciolta in acqua fino ad  $\frac{1}{5}$  del volume primitivo (a). Una seconda fu precipitata con acqua di calce e il precipitato, scarsissimo, dopo raccolto fu ripreso con HCl diluito fino a reazione debolmente acida riportandolo ad 5 del volume primitivo (b). Un'altra parte fu distillata in presenza di lieve eccesso di soda caustica (ammoniaca e basi volatili) raccogliendo il distillato in  $H_2SO_4$   $\frac{10}{N}$  aggiunto grado a grado in modo che il distillato presentasse sempre reazione leggermente acida: come al solito fu riportato al volume primitivo (c). A volume iniziale fu anche riportato il residuo della distillazione (veleni fissi) (d). L'ultima porzione venne manipolata secondo il metodo di Brieger (9), ossia fu leggermente acidificata con HCl e concentrata a b. m. fino a consistenza sciropposa; indi estratta con alcool. Scacciato l'alcool, il residuo fu ridisciolto in acqua fino al volume primitivo (e).

In presenza di tali preparati furono messi a germinare i semi ottenendosi:

Tabella VII.

Numero di semi germinati in	Frumento	Erba medica	Trifoglio	Amarantus tricolor	Amarantus caudatum
Controllo a) precip. alcoolico b) precip. con Ca (OH) c) distillato d) res. d. distillazione e) basi salificate	98 95 82 61 43 10	100 97 80 55 88 4	96 93 79 40 85	92 91 72 48 30 7	96 94 68 51 86 2

L'esperienza dimostra che i composti tossici elaborati dal fungo sono di varia natura ma che tra essi predominano le basi azotate volatili e fisse.

Questi risultati in gran parte collimano con quelli ottenuti da Pantanelli (44) per Fusarium incarnatum.

Tale concomitanza di reperti lascerebbe pensare che i prodotti tossici dei funghi siano tutti di uguale od analoga natura. Uno studio condotto in tal senso con varie specie di funghi patogeni e non patogeni potrebbe o meno confermare tale supposizione.

#### Ricerche sulla biologia di alcuni Verticillium patogeni.

Dal momento che, ritenutolo opportuno, avremmo condotto alcune ricerche fisiologiche su Verticillium amaranti, abbiamo creduto utile di estendere le medesime a Verticillium albo-atrium, Verticillium dahliae, Verticillium tracheiphilum e Acrostalagmus cephalosporioides.

#### Influenza della reazione del mezzo e punto isometabolico.

Per le presenti ricerche ci siamo valsi del seguente liquido base.

nitrato potassi	co .			٠	10
saccarosio					20
fosfato bipotas	sico	٠.			1
cloruro di cale	io .				0,3
solfato di mag	nes	io.			0,3
cloruro sodico					0,1
cloruro ferrico					0,01
acqua distillat	a .				1000 -

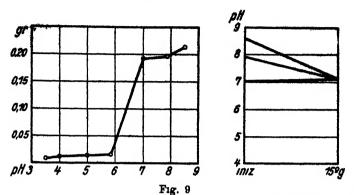
il cui tenore in pH abbiamo fatto variare aggiungendo opportune quantità di ac. lattico o di carbonato sodico. Furono allestite Erlenmeyer da 250 cc. con 100 cc. di liquido la cui reazione venne di nuovo controllata dopo la sterilizzazione. Le colture furono mantenute a 24 °C. per un numero sufficiente di giorni; indi furono tolte le membrane e seccate a 100 °C. fino a costanza di peso. Ottenemmo:

. Tabella VIII.

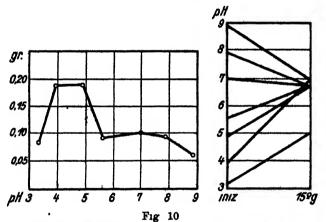
Specie	pН	nembrane	pН	og peso delle	pН	og peso delle membrane	рН	og peso delle	Н	ng peso delle	pН	og peso delle membrane	рH	peso delle
V- albo-atrum		0.0750  0.0012	3.9 3.9 4	$0.1602 \\ 0.0096$	4.9 4.9 5	0.1850 0.1620 <b>0.215</b> 0	5.6 <b>5.6</b> 6	0 0098 0.0980 <b>0.1850</b> 0.1970 0.4560	7 7 7	0.1928 0.1004 0.1047 0.1820 0.4200	7.8 7.8	0.0932	8.9 8.9 8.5	0.1051

Il comportamento delle diverse specie, di fronte alla reazione del mezzo, è piuttosto vario. Per quanto si riferisce a Verticillium albo-

atrum, in actordo con precedenti ricerche (26), esso dimostra di preferire, decisamente, la reazione alcalina.



Influenza della reazione del mezzo sullo sviluppo di Verticilium albo-atrum e punto isometabolico.



Influenza della ressione del mezzo su Verticillium dahiace e punto isometabolico.

Tabella 1X.														
	p	рН рН		pH pH		pН		pН		pН				
Specie	iniziale	fisale	inizale	finale	intriale	finale	inigiale	fisale	iniziale	finale	iniziale	finale	iniziale	ffnale
V. albo-airmn V. dakitae V. drakitae V. tracheiphilmn V. amaranti A. cuphalosparioides	3.8 	5 - 7	8.9 8.9 4 8.9	6.9 6.9 6.8 7.8	4.9 4.9 5	6.7 7.1 6.7 7.8	5.6 5.6 6 5.6	6.7 7.5 6.7 7.8	7 7 7 7	7.2 6.7 6.7 6.7 6.9	7.8 7.8 7.8 7.8	7.9 6.7 6.5 	8.5 8.9 8.9 8.6 8.6	7.2 6.9 7.1 6.7 7,8

Phytopoth. Z. Bd. 8 Moft 3

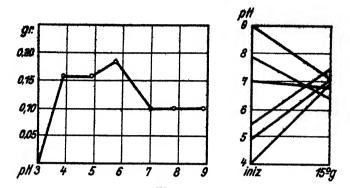
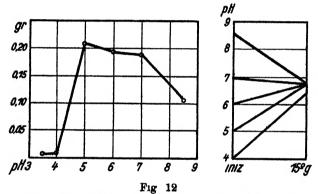
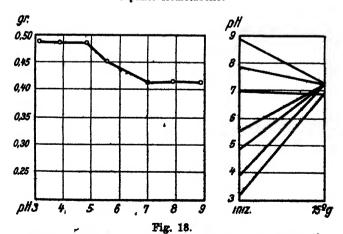


Fig. 11.

Influenza della reazione del mezzo su Verticillium tracheiphilum e punto isometabolico.



Influenza della reazione del mezzo su Verticilhum amaranti e punto isometabolico



Influenza della reazione del mezzo su Acr. cophalosporioides è punto isometabolico.

Verticillium dahliae trova il suo ottimo tra pH 4-5; Verticillium tracheiphilum tra pH 5-6 e, così anche, Verticillium amaranti. Acr. cephalosporioides non sente, in modo evidente, l'influenza della reazione e, a differenza delle altre specie, dimostra di sviluppare bene, forse meglio, anche in reazione acida.

Con la stessa tecnica precedente abbiamo seguito il cambiamento della reazione nei liquidi di coltura saggiando il pH finale al 15° giorno. In tal modo abbiamo potuto avere nozione del "punto isometabolico", delle diverse specie, relativamente al substrato impiegato, cioè il punto il cui il pH non tende più a variare mentre intorno ad esso finiscono con l'aggirarsi i diversi valori iniziali (54).

Per ogni specie si verificò, acidificazione dei mezzi alcalini e alcalinizzazione dei mezzi acidi, fino al raggiungimento di un punto che dimostra aggirarsi intorno alla neutralità. (Figg. 9-13).

#### Influenza della temperatura.

Per quello che si riferisce all'influenza della temperatura sullo sviluppo dei Verticilli non si hanno numerose esperienze e tutte si sono imperniate, con reperti neppure molto concordi, su *Verticillium albo-atrum*. Infatti:

		temperatura					
Autore	Specie	minima	ottima	massima			
	nella pian	ta:					
Bewley	V albo-atrum	15.6	21.2—22.8	24 25 —			
*	in coltur	a:					
Bewley	V albo-atrum	5-10 10-14 10 5	28 28 20—25 22—25 25	80 83 — 87 85 — 87 27 80 — 85			

Ad ogni modo, a parte la incostanza dei reperti, sembrerebbe che lo sviluppo di *Verticillium albe-atrum*, sia in vivo che in vitro, abbia analoghe esigenze termiche e che temperature superiori ai 25—28° C. ne rallentino o inibiscano lo sviluppo.

Noi, con le specie in esame, abbiamo eseguito delle semplici prove coltivando a tre diverse temperature e cioè a 12—15° C., 24—26° C., 35—37° C.

Di queste tre temperature la migliore si addimostrò, in genere, quella di 24—26° C. Verticillium ambranti si dimostrò anche meno sensibile delle altre specie di fronte alle temperature diverse da questa.

Tabella X.

Specie	Peso, in gr. 100° C. do	, delle memb po 15 giorni	rane seccate a di coltura a
	12—15 ° C.	24-26° C.	35—37 ° C.
V. albo-atrum	0.0094 0.0050 0.0091 0.0650	0.1154 0.0085 0.1021 0.0880	0.0016 0.0014 0.0012 0.0460
A. c:phalosporioides	0.1070	0.2150	0.0020

#### Influenza della sorgente alimentare.

Nel liquido nutritivo cui a p. 112 e privato di nitrato potassico furono aggiunte in quantità equimolecolari fino ad un contenuto pari allo  $0.2^{\circ}/_{\circ}$  di N le seguenti sostanze: peptone, asparagina, nitrato potassico, solfato ammonico. I funghi furono coltivati, come al solito, in 100 cc. di liquido contenuto in Erlenmeyer da 250 cc., a 24 ° C. per 15 giorni. Dopo di che le membrane furono essiccate e pesate. Si ottenne:

Tabella XI.

Specie	Peso, in gr, delle membrane seccate a 100° C. dopo 15 giorni di coltura presente:								
	peptone	asparagina	KNO <sub>8</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>					
V. a'bo-atrum	0.195 0.287 0.274 0.261 0.452	0.175 0.160 0.193 0 156 0.287	0.187 0.104 0.128 0.137 0.310	0.050 0.148 0.160 0.203 0.392					

L'azoto proteico (peptone) è la forma di azoto che meglio si dimostra essere assimilabile; una molto minore utilizzazione si ha invece dell'azoto amidico e dell'azoto minerale.

Per quanto si riferisce al comportamento di fronte alle diverse sorgenti di carbonio, abbiamo fatto ancora uso del liquido base sostituendo al saccarosio altre sostanze — glucosio, saccarosio, lattosio, galattosio, glicerina, mannite — aggiunte in quantità equimolecolari fino ad un contenuto pari all'1 % di C.

Fu proceduto come di solito, ottenendosi:

Tabella XII.

Specie	Peso, in gr., delle membrane seccate a 100° C. dopo 15 giorni di coltura in presenza di:										
	glucosio	galattosio	saccarosio	lattosio	glicerina	mannite					
V. albo-alrum V. dahliac V. tracheiphilum V. amaranti A. cephalosporioides	0.210 0.189 0.223 0.218 0.235	0.204 0.193 0.220 0.215 0.231	0.195 0.171 0.207 0.220 0.280	0.187 0.166 0.196 0.209 0.215	0.120 0.110 0.170 0.160 0.191	0.135 0.121 0.165 0.197 0.209					

Mentre la sorgente alimentare azotata influiva sullo sviluppo dei funghi in modo abbastanza evidente, non così sembra avvenire per la sorgente di carbonio. Il glucosio, forse perchè a costituzione meno complessa, si dimostra più facilmente attaccabile; ma accanto ad esso abbiamo altri zuccheri pure ugualmente o quasi utilizzati qualora si eccettui, e non di molto, il lattosio.

Seguono, agli zuccheri, gli alcool poliossidrilici.

#### Influenza di alcune sostanze chimiche.

In margine alle esperienze sopra riferite si è creduto opportuno di indagare il comportamento dei funghi in esame di fronte a varie sostanze chimiche onde stabilire quali, delle diverse, e in quali limiti, si sarebbero dimostrate più tossiche. La ricerca, per le malattie vascolari, avrebbe un particolare interesse nei riguardi della chemioterapia interna qualora questa potesse praticamente realizzarsi (46).

Le 1300 circa prove eseguite si possono dividere in due gruppi, poichè da una parte abbiamo sperimentato con sali minerali, dall'altra con sostanze coloranti di natura organica.

Per quanto si riferisce al primo gruppo abbiamo contenuto le dosi tra l'1 e il 10% in peso del sale metallico anzichè, come sarebbe apparso più razionale, del metallo, e ciò in quanto era l'azione del complesso salino più che del catione che volevamo indagare. Per le sostanze coloranti, usate in soluzione acquosa o idroalcoolica, i limiti delle concentrazioni, data la loro provata maggiore tossicità, sono stati invece compresi tra 1:5000 e 1:500000. Per quanto, infine, fu relativo alla tecnica si operò come segue: a tubi di coltura contenenti 10 cc. esatti di agarfagiuoli sterile vennero aggiunte in quantità corrispondenti alle proporzioni stabilite le diverse sostanze; indi i tubi vennero nuovamente sterilizzati in corrente di vapore facendo poi solidificare l'agar in posizione inclinata. Eseguito l'insemenzamento con i diversi funghi in esame i tubi vennero mantenuti alla temperatura ambiente sufficientemente elevata (queste prove furono eseguite durante i mesi di luglio e di agosto) per un numero di giorni variabile, a seconda dello sviluppo, tra sette e quindici: non oltre, in ogni caso.

I risultati ottenuti sono riportati nelle Tabella XIII e XIV.

Dalla prima di queste risulta chiara la decisa azione inibente dei sali di arsenico sia sotto forma di arseniti che di arseniati in accordo a quanto è noto sulla tossicità di tali composti. Ugualmente inibente si è dimostrato anche nelle più deboli concentrazioni il cloruro mercurico e l'acido cromico. Di poi, abbastanza energica azione ha esplicato il solfato di cadmio con risultati quasi comparabili a quelli degli altri composti; e poi, ancora, il nitrato di uranio. Delle altre sostanze, molte non hanno manifestato alcuna azione inibente mentre alcune, come il solfato di rame

Tabella XIII.

-- sviluppo positivo; -- assenza di sviluppo; (+) sviluppo limitatissimo.

	V. albo-atrum	1. dah'ine	1. tracheiphilum	I. amaranti	A. cephalo- sporioides
	$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{c cccc} 1 & 1 & 1 & 1 \\ \hline 1000 & 400 & 200 & 100 \end{array}$	$\begin{array}{c cccc} 1 & 1 & 1 & 1 \\ \hline 1000 & 400 & 200 & 100 \end{array}$
Solfato di rame	+	+ - + - + + (+)	+ + (+) -		+ (+)
- di ferro		++-++-++-++-++-++-++-++-++-++-++-++-++-	++ + - + - + - + -	++++++++	++ ++ ++ ++ ++
- di manganese	<del>   </del>	+ -   +   +   +	+ + + +		<u>+</u>
Cloruro mercurico.	     	1	1		·   ;
- stannoso	+ (+)	+ (+)	-+ ·+ ·+ ·+ ·		
- potassico	+-+-+	+ -+-+	+ + + + + + +		-+ -+ -+
- di bario	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+ + + +			- - - - -
Nitrito di potassio	+ 1 + 1 + 1 + 1	+ + + + +	+		- + +
Ioduro di potassio	+ + (+) :-	+ -+ -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1 -1	+ + + (+) -		+
di calcio	+ + (+) -	+ + (+) -	+ (+): -   -		- <del>+</del>
Acetato di sodio	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	+-+ + (+)	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +		<del> </del>
- di potassio				-	  -    -
Arseniato di sodio			1		
- di potassio	1 1 1	-	-		-   -   -
Permanganato di potassio	+ + + (+)		+ · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		
Acido cromico	1 - 1 - 1		-	-	-
Arcido Ciomico	-	-	-		

e gli ioduri di Ca e di K, hanno agito solo se in concentrazioni piuttosto elevate.

Della Tabella XIV, lasciando da parte tutta la serie di coloranti della cui presenza lo sviluppo dei funghi in esame non ha affatto o poco risentito almeno nei limiti delle concentrazioni sperimentate, emerge l'azione fortemente inibente del verde di malachite a cui segue il verde brillante e, in parte, il violetto di genziana.

L'azione del verde di malachite, la cui formula corrisponde alla seguente:

$$CH_{3} - N = \langle \cdot \cdot \rangle = C \langle \cdot \cdot \rangle - N \langle \cdot \cdot \rangle$$

$$CH_{3} - N = \langle \cdot \cdot \rangle = C \langle \cdot \cdot \rangle - N \langle \cdot \cdot \rangle$$

$$CH_{3} - N = \langle \cdot \cdot \rangle = C \langle \cdot \cdot \rangle - N \langle \cdot \cdot \rangle$$

è stata invero provata su di un certo numero, sia pur esiguo, di germi. Gay e Morrison (23) lo sperimentarono tossico nella diluizione di 1:2000 000 su gli streptococchi, di 1:2000 su gli stafilococchi, di 1:2000 sui bacilli del tifo. Kligler (31) trovò che lo Staphylococcus aureus viene inibito da una concentrazione di 1:300000 e Bac. subtilis di 1:4000000; per Bac. coli occorse una diluizione di 1:40000, per i b. del tifo di 1:30000 e della dissenteria tra 1:250000 e 1:500000. Altre specie batteriche furono provate da Schiemann e Baumgarten (53). Sui funghi fu sperimentato da Leonian (35, 36) che lo accertó attivo su Fusarium a 1:500000 e su Phytophthora tra 1:800000—1:16000000; da Vanderwalle (56) su Botrytis cinerca a 1:16000; da Dessy (16) su di alcuni Mucor a 1:40000; da Boudru (8) su Ceratostomella ulmi a 1:2000000.

Il verde brillante corrisponde alla formula:

$$\begin{array}{c|c} \operatorname{CH_3} \cdot \operatorname{CH_2} & \operatorname{SO_3H} \\ & & \\ \operatorname{CH_3} \cdot \operatorname{CH_2} & \\ & & \\ \end{array} \rangle = C \begin{array}{c} \operatorname{CH_2} \cdot \operatorname{CH_3} \\ & \\ \operatorname{CH_2} \cdot \operatorname{CH_3} \\ \end{array}$$

Kligler lo trovò attivo su stafilococchi a 1:4000000, su B. subtilis a 1:15000000; sui b. della dissenteria tra 1:500000 e 1:2000000; su B. coli a 1:550000, su B. typhosum a 1:510000, e su B. aerogenes a 1:100000.

Gay e Morrison (23) lo accertarono inibente lo sviluppo a 1:2000 000 su streptococchi, a 1:20 000 su stafilococchi e a 1:2000 sui b. del tifo. Altre ricerche, sul v. brillante, furono condotte da Beckwith (4), Gilbert e Coleman (24), Browning e Gilmour (10) e da altri. Sui Mucor, secondo Dessy (16), è attivo a 1:40 000, su Ceratostomella ulmi, per Boudru (8), a 1:250 000.

Tabella XIV. + sviluppo positivo; — assenza di sviluppo; (+) sviluppo limitatissimo

			1. 0	V. albo-atrum	U. albo-atrum					Λ.	V. dahliae			
	-		-	-	-	-	-	1	1		-	1	-	-
	2000	10000	20000	20000	100000 200000 200000	000000	200000	2000	10000	20000	20000 1	100000	200000	200000
Rosso Congo	+	+	+	+	+	+	+	ŧ	+	+	+	+	+	+
- carminio	+1	+ <u>£</u>	++	++	++	++	1-+	<u>+</u> 1	+	++	++	++	++	++
fenolo	l	]	$\pm$	-+-	-+-	+-	+-	ı	1 =	$\pm$	+-	+-	+-	+-
Carminio d'indaco	1 🕣	1+	<del>+</del> +	+-+	+-1	+-1	<del> </del> -	1 🕀	<u>+</u>	 <del>[</del> +	++	+-+	++	1-1
Fucsina diamante	<u>}</u> +	-+	-+	-+	-+	+	-+-	$\pm$		-+-	-+-	-+	+	-+-
Eritrosina	+=	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-		+-	+-	+	+-
Eosina Safranina	<del></del>	++	 <del> </del>	 <del> </del>	+-+	+-	1-1	++	+-+	<del></del>	<del> </del>	1-+	++	<del>   </del>
Sudan III	- I	<del>-</del> <del>-</del>	<del></del>	-+-	-+	-+	-+	-	$\pm$	+	-+	-+	+	-+-
Metilorange	+	+	+	+	+	+{	+{	+	+	+-	+	+	+	+(
verue urmante	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	Ðι	ΕŒ	1 1			1 1		1 1	ĒΙ
metile	$\widehat{\pm}$	$\widehat{\pm}$	+	+	+(	+	+-	1	$\widehat{\pm}$	+	+	+	+(	+-
Violetto di genziana	+	1+	1+	1 +	+	++	<del> </del> +	1+	1+	1+	1 +	1 +	<del>]</del> +	++
Bleu di metilene.	$\oplus$	$\oplus$	-+-	-+-	-+-	+	-+	-   -	$\pm$	+	+-	+	-+-	-+-
di anilina	1-	+-	+-	+-	 - <del> </del> -	+-	+-1	+-+	+-+	+-1	+-	+-+	+	+-4
Azzurro bromo-fenolo			-+		-+	-+	-+		-+-	-+	+		-+	-+
- timolo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bruno Bismark	$\pm$	+	+(	+-	+-	+	+-	1	$\oplus$	+	+{	+-	+	+-
Cresofftaleina	1	1		 - <b>+ -</b>	+-	+	+-	1	1	1 =	<del>+</del>	+-	+-	+-
renomaliane	  -	1	E	+	+	- <del> </del>	<del>-</del>	1	1	E	-	+	+	+

	-	_
į	Þ	
	×	4
	_	٦
	9	3
	٥	Š
	والملاهر	á
	Ę	4

	The second secon											
		I. trac	. tracheiphilum	_				7.	F. amaranti	ţį		
		-	1 1	_	-	-	-	-	1	-	П	1
	2000 10000	20000	20000 1000	000 5000	100000 200000 200000	2000	10000	5000	50000 1	00000	500000	200000
Rosso Congo	<u> </u>	+		_		+	-+-	+	+	+	+	+
- carminio	+ I  + I	 - - 	++ 	++	++	+1	++	++	++	++	+-+	++
fenolo						١	$\pm$	+	+	+	+	+
Carminio d'indaco		+-1				-	<del></del> +	++	++	++	+-+	+-1
Fucsina diamante		· †				+	-+	 -+	-+	-+		-+
Eritrosina		 · <del>  -</del> -				-+ -	<del> </del>		+	+-	+	+-
Eosina Sefranina	-	 +-+				+-+	++	+-	+-1	+-	+-+	+-+
Sudan III						+	+	-+	-+	-+	-+	-+-
Metilorange		+				+		+	+	+	+	+
Verde brillante		1					1 1	1	1	ı	Ŧ	<del>[</del> -
- metile		   + 			-	<del>-</del>	$\pm$	ı -+	   +	  -+	1 +	<del>   </del>
Violetto di genziana		-				- 1	£	+	+	-+-	+	+
Porpora bromo-cresolo Blom di motilone		++				+-	 +-+	+-	+-	++	+-	+-
— di anilina		<del>-  </del>					-+		-+	-+	-+	-+
- timolo		 - <del> -</del>	· · · · ·			+	+		+		+	+
Azzurro bromo-fenolo		<del> </del>			٠.	+-	+-	+	 <del> </del>	+-	+	
timolo		 <del> -</del>				+-	+-	+-	+-	+-	+-	+
Brund Bismark		+==				+	+	<del> </del>	 <del> </del> -	<del></del>	<del></del>	<del> </del>
Cresontaleina		 L:(1				ιŒ	<u>-</u> +			+-+		<del> -</del> -+
TOTAL CHARGE TO THE CHARGE TO		\ - -	-		-	`	-	-	-	-	_	_

(Tabella XIV.)

			A. cep	halospo	rioides		
	$\frac{1}{5000}$	1 10000	$\frac{1}{20000}$	1 50000	1 100000	$\frac{1}{200000}$	1 500000
Rosso Congo  — carminio  — metile  — fenolo  — cresolo  Carminio d'indaco  Fucsina diamante  Eritrosina  Eosina  Safranina  Sudan III  Metilorange  Verde brillante  — di malachite  — metile  Violetto di genziana  Porpora bromo-cresolo  Bleu di metilene  — di anilina  — timolo  Azzurro bromo-fenolo  Bruno Bismark  Cresolftaleina  Fenolftaleina	++111+++++++11++++11	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++		+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++		+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++

In definitiva, l'azione di tali sostanze rimane adunque accertata e, siccome esse agiscono in diluizioni fortissime, almeno in vitro, varrebbe la pena di estendere le ricerche anche in vivo somministrandole alle piante artificialmente infettate con funghi o batteri tracheifili onde stabilire, più chiaramente, l'efficacia ancora dubbia o poco chiara dei trattamenti chemioterapici interni.

#### Riassunto e Conclusioni.

Da quanto è stato riferito è possibile di trarre le seguenti generali conclusioni riassuntive:

- 1. È stata studiata, nelle sue cause e nei suoi effetti, una infezione di natura micetica su piante di Amarantus tricolor L.
- 2. Descritti i caratteri esterni ed interni della malattia, fu isolato dai tessuti parassitati un *Fusarium* sp. rientrante nel gruppo di *Fusarium vasinfectum* Atk. ed un *Verticillium* sp.
- 3. Il Verticillium sp., studiato nei suoi caratteri morfologici, colturali e fisiologici, non è stato possibile di identificarlo con altre specie note e ne fu distinta la nuova specie Verticillium amaranti.
- 4. Sia con il Fusarium sp. che con il Verticillium amaranti si rese agevole di riprodurre sperimentalmente su piante sane di Amarantus tricolor la malattia di partenza.
- 5. Il fatto che la malattia potesse essere riprodotta sia dall'uno come dall'altro fungo ci portò a concludere che l'infezione dovesse rientrare nel gruppo da uno di noi (Verona) definito delle malattie a "eziologia multipla".

- 6. Discusse le diverse teorie elaborate al fine di stabilire il modo d'azione dei funghi tracheifili e ripresa la teoria tossicologica, è stato accertato da parte di Verticillium amaranti e di altri Verticillium patogeni la produzione di nitriti; ed inoltre, per Verticillium amaranti, la formazione di composti, nei mezzi di coltura, ostacolanti o inibenti la germinazione dei semi. A questo riguardo è stato anche accertato che, tali composti, non sono di natura termolabile; vengono trattenuti, forse per effetto di fenomeni di adsorbimento, dalla terra; e che la loro natura è varia pur predominando in essi le basi azotate volatili e fisse. Per contro non risultò tossico l'estratto miceliare del fungo.
- 7. Lo studio della tracheomicosi dell'Amaranto ha poi occasionato alcune ricerche sulla biologia di alcuni Verticillium patogeni. Indagato:
  - a) l'ottimo di reazione del mezzo, fu trovato che Verticillium albo atrum preferisce decisamente la reazione alcalina, mentre Verticillium dahliae ha il suo ottimo tra pH 4-5, Verticillium tracheiphilum tra pH 5-6 e, così, anche Verticillium amaranti: in ogni caso la reazione del mezzo, per opera di tali specie, tende a portarsi alla normalità qualsiasi sia la concentrazione indrogenionica di partenza:
  - b) come, i diversi ceppi di Verticillium, ci comportino di fronte alla temperatura, fu stabilito che l'ottimo si aggira fra i 24-26° C. risultando fortemente ostacolante la temperatura di 35-37° C.
  - c) il comportamento di fronte al variare della sorgente alimentare, fu trovato che, tra le sorgenti azotate, molto bene è utilizzato l'azoto proteico e, tra le sorgenti di carbonio, i monosaccaridi a preferenza dei disaccaridi e degli alcool.
  - d) il comportamento di fronte a sali minerali e sostanze coloranti di natura organica, fu accertata l'azione tossica nei limiti di 1:100 -1:1000 dei sali di arsenico, del cloruro mercurico, dell'acido cromico: minore azione o nulla, altri sali; azione ostacolante fu anche accertata, nei limiti di 1:200000-1:500000, del verde di malachite e del verde brillante il cui uso potrebbe tentarsi nei trattamenti chemioterapici interni.

#### Lavori citati.

- 1 Aderhold, R. Über eine Trombose der Johannis- und Stachelbeere. Mitteilungen der K. Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft, 4, 26, 1907.
- 2 Appel, O. Einiges über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. 1908. Jahresbericht des Vereins für angewandte Botanik, 6, 259, 1909.
- 3 Appel, O. e Wollenweber, H. W. Studien über Kartoffel-Fusarien. Mitteilungen der K. Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft, 8, 17, 1909.
- 4 Beckwith, I. D. The viability of B. typhosum in alkaline bile in vivo. Proc. Soc. Expt. Biol. and Med., 18, 35, 1931.
- 5 Berkeley, G. H. e Jackson, A. B. Verticillium wilt of the red raspberry. Sci. Agr. 6, 261, 1926.
- 6 Bewley, W. F. "Sleepy disease" of the tomato. Ann. Appl. Biol., 9, 116, 1922.
- 7 van Beyma Thoe Kingma, F. H. Über ein Kartoffelfäule verursachendes Verticillium: Verticillium foexii n. sp. Med. Phytopath. Lab. "Willie Commelin Scholten", 12, 31, 1928.
- 8 Boudru, M., Quelques notes sur la biologie du *Ceratostomella ulmi* (Schwarz) Buisman, agent de la Thyllose parasitaire de l.Orme. Bull. de l'Inst. Agron. de Gembloux, 2, 310, 1933.
- 9 Brieger. Siehe Pantanelli (44).
- Browning, C. H. e Gillmour, W., Bactericidal action and chemical constitution with special reference to basic benzol derivatives. Journ. Path. and Bact., 18, 144, 1913.
- 11 Carpentier, C. W. Wilt diseases of okra and the Verticillium problem. Journ. Agr. Res., 12, 529, 1918.
- 12 Curzi, M. Intorno alla causa dell'avvizzimento del peperone (Capsicum annum L.). Nuovo Gior. Bot. Ital. N. S., 32, 380, 1925.
- 13 Curzi, M. Il parassit'smo di Verticillium tracheiphilum Czi e la diffusione della "tracheoverticilliosi" del peperone in Italia. Riv. Patol. Veg., 15, 145, 1925.
- 14 Curzi, M. La tracheoverticilliosi della patata in Italia. Riv. Pat. Veg, 16, 77, 1926.
- Curzi, M. Intorno alle tracheomicosi e a nuovi gravi casi di Verticilliosi. Boll.
   R. Staz. Patol. Veg. di Roma N. S., 10, 44, 1930.
- 16 Dessy, G. La chemiothérapie des mycoses. Soc. Int. di Microbiologia. Bull. d. Sez. Italiana, 1933.
- 17 Dowson, W. J. On the symptoms of wilting of michaelmas daisies produced by a toxin secreted by a Cephalosporium. Brit. Mycol. Soc. Trans. 7, 383, 1922.
- 18 Dowson, W. J. The wilt disease of michaelmas daisies. Journ. Roy. Hort. Soc., 48, 38, 1923.
- 19 Dufrency, J. Production des nitrates par des "Verticillium" en culture pure. Boll. Soc. Chim. Biol., 9, 985, 1927.
- 20 Dufrenoy, J. e Dufrenoy, M. L. Hadromycoses. Ann. Epiphyt 13, 195, 1927.
- 21 Foëx, E. Une pouriture verticillienne du tubercule de pomme de terre. Ann. Epiphyt. 9, 121, 1923.

- 22 Fuchs, J. Über die Beziehungen von Fusarium zu anderen Fruchtformen. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten 1924.
- 23 Gay, F. e Morrison, L. Experimental Streptococcus empyema. II Attempts at dye therapy. Journ. Infect. Diseases, 28, 1, 1921.
- 24 Gilbert, A. et Coleman, L. C. Brilliant-green enrichment methods in the examination of feces for organisms of the enteric group. Journ. Inf. Disease, 44, 21, 1929.
- 25 Goidanich, G. La verticilliosi dell'Acer campestre L. e alcuni altri casi di tracheomicosi in Italia. Boll. R. Star. Pat. Veg. di Roma 12, 285, 1932.
- 26 Haenseler, C. M. Effect of soil reaction on Verticillium wilt of Eggplant. Forty-ninth. Ann. Rept. New Jersey Agric. Exper. Stat. for the year ending June 30, 1928, 267, 1928.
- 27 Hoffman, H. Spermatien bei einem Fadenpilze. Botanische Zeitung 12, 249, 265, 1854.
- 28 van Hook, J. M. Diseases of ginseng. Cornell Agr. Exp. Sta. Bull. 219, 165, 1904.
- 29 Janse, J. M. Der aufsteigende Strom in der Pflanze, II. Pringsheim's Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik, LII, 1913.
- 30 Klebahn, H. Beiträge zur Kenntnis der Fungi imperfecti. I. Eine Verticillium-Krankheit auf Dahlien. Mycol. Centr. 3, 49, 1913.
- 31 Kligler, A study of the antiseptic properties of certain organic compounds. Journ. Expt. Med. 27, 463, 1918.
- 32 Kosaroff, P. Die Wirkung der Kohlensäure auf den Wassertransport in der Pflanze. Botanisches Zentralblatt, Bd. LXXXIII, 1900.
- 33 van der Lek, H. A. Onderzoekingen over tracheomycosen: De verticilliose van den komkommer. Med. Landbouwhoogesch., 15, 1, 1918.
- 34 van der Lek, H. A. A. Over de z. g. "Verwelkingsziekten" in het bijzonder die, welke door Verticillium albo-atrum veroorzaakt worden. Tijdschr. Plantenziekten, 24, 205, 1918.
- 35 Leonian, L. Studies on the variability and dissociation in the genus Fusarium. Phytopath. 1930.
- 36 Leonian, L. Differential growth of Phytophthoras under the action of malachite green. American Journ. of Botany, 671, 1930.
- 37 van der Meer, J. H. H. Verticillium-wilt of herbaceous and woody plants. Med. Landbouwhoogesch. 25, 17, 1925.
- 38 van der Meer, J. H. H. Verticillium-wilt of herbaceous and woody plants. Med. Landbouwhoogesch. 28, 1, 1925.
- 39 van der Meer, J. H. H. Verticillium wilt of maple and elm-seedlings in Holland. Phytopath. 19, 611, 1926.
- 40 Miles, L. E. e Persons, E. D. Verticillium wilt of Cotton in Mississippi. Phytopath., p. 767, 1932.
- 41 Montemartini, L. L'ascensione dell'acqua nel fusto delle piante. Atti Soc. Ital. Progresso Scienze, Riun. XIII, 10, 1924.
- 42 Müller-Thurgau, H. Der rote Brenner des Weinstockes. Centralbl. f. Bakt., II, 10, 113, 1903.
- 43 Müller-Thurgau, H. Der rote Brenner des Weinstockes. II. Teil. Centralbl. f. Bakt., II, 38, 586, 1913.
- 44 Pantanelli, E. Su l'inquinamento del terreno con sostanze novice prodotte dai funghi parassiti delle piante. Rend. R. Acc. Lincei, 22, ser. 5, 116, 1913.
- 45 Pethybridge, G. H. Potato diseases in Ireland. 2nd Rept., 11, 417, 1911.
- 46 Petri, L. La terapia interna nella Patologia Vegetale. Boll. R. Staz. Pat. Veg. di Roma. N. S. 7, 101, 1927.

- 47 Picado, A. Sur l'action à distance des champignons phytopathogènes. Congr. Path. Veg. (Strasburgo, 1923).
- 48 Reinke, J. e Berthold, G. Die Zersetzung der Kartoffel durch Pilze. Untersuchungen des Botanischen Laboratoriums der Universität Göttingen, 1, 1, 1879.
- 49 Rosen, H. R. Efforts to determine the means by wich the cotton-wilt fungus "Fusarium v:sinfectum" induces wilting. Journ. Agr. Research., 33, 1143, 1926.
- 50 Rosen, H. R. A consideration of the pathogenicity of the cotton-wilt fungus "Fusarium vasinfectum". Phytopath., 18, 419, 1928.
- 51 Rudolph, B. A. Verticillium Hadromycosis. Hilgardia, 5, 197, 1931.
- 52 Sartory, A. R. e Meyer. L. Etude d'un Verticillium nouveau parasite de certain Araignées. C. R. Soc. de Biol., 104, 53, 1931.
- 53 Schiemann, O. e Baumgarten, W. Reagenzglasversuche über die Wirkungen von Acridin- und anderen Farbstoffen auf Bakterien. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, 97, 247, 1923.
- 54 Sideris, C. P. Studies of the behavior of *Fusarium* cromyophthoron in carbohydrates, glucosides, proteins and various decoctions with a discussion on the "Isometabolic Point" of substances. Phytopathology, 129, 1925.
- 55 Störmer, K. Obstbaumsterben und Kartoffelblattrollkrankheit. Jahresbericht Ver. Angew. Botanik, 7, 119, 1909.
- 56 Vanderwalle, R. Pouvoir fongicide de certaines substances vis-à-vis du Botrytis cinerea. Citato da Boudru (8).
- 57 van de Veen, R. Onderzoekingen over tracheomykosen. Thesis, University of Utrecht 1930.
- 58 Verona, O. Sul cosidetto "vaiolo" del Cavolfiore. Boll. R. Ist. Sup. Agrario di Pisa, 1932.
- 59 Ware, W. M. A disease of cultivated Mushrooms caused by Verticillium malthousei sp. nov. Ann. of Botany, 47, 763, 1933.
- 60 Wollenweber, H. W. Tracheomykosen und andere Welkekrankheiten nebst Aussichten ihrer Abwehr. Angewandte Botanik, 4, 1, 1922.

## From the Royal Botanic Garden, Edinburgh.

# A disease of Bracken and other ferns caused by Corticium anceps (Bres. ed Syd.) Gregor.

By

Mary J. F. Gregor.

With 11 Figures.

#### Introduction.

During recent years the rapid spread of Bracken (Pteridium aquilinum [L.] Kuhn) has become a serious menace in various parts of Great Britain, more particularly in mountainous regions such as Scotland. The question of Bracken control is, therefore, a matter of the utmost importance, and several different aspects of the problem have been investigated under the auspices of the Department of Agriculture for Scotland. In 1926 the discovery of a disease of Bracken which, in certain cases at least, appeared to effect a permanent eradication of the weed, suggested the possibility of controlling the Bracken by deliberate dissemination of the parasite, so, with this aim in view, the study of the disease was commenced. It was found that what had ad first been regarded as a single disease was in reality two or more diseases. One of these was readily distinguishable from the others on account of the luxuriant growth of superficial mycelium produced on the lower surface of the frond, and also because of the rather specialised environmental conditions under which it flourished. The parasite was identified by Miss E. M. Wakefield of Kew as Tulasnella anceps, and the disease caused by it forms the subject of the present paper.

#### Historical review.

The disease was first recorded in 1910 from a single locality in Mecklenburg, Germany, and the fungus was named Tulasnella~anceps Bres. et Syd. In the original description Sydow (1910, p. 490) drew attention to the membranaceous nature of the receptacle, which resembles that of a typical Corticium, but he stated that in all other respects the structure was characteristic of the genus Tulasnella. The sterigmata were said to measure  $8-10\times2-2.5~\mu$ , while the basidiospores germinated by the formation of secondary spores. This description was included in Saccardo's

Sylloge Fungorum (1912, p. 452) two years later. Some years afterwards Bourdot and Galzin (1928, p. 242) transferred the species to the genus *Corticium*, section Botryodea, but cited it as a synonym for *C. vagum* Berk, et Curt.

In 1932 (Gregor, March 1932) a brief popular account of the disease was published and the parasite was stated to be a species of Corticium, while reference was made to a forthcoming paper (Gregor, October 1932) containing a discussion of its taxonomic position. The occurrence of sclerotia was mentioned here for the first time. In August of the same year Wakefield (1932, p. 7) recorded the collection of Tulasnella anceps near Belfast during the 1931 autumn foray of the British Mycological Society. She also referred to the presence of sclerotia whose identity with T. anceps she had proved by cultural studies. Although she included the fungus in her list under the name T. anceps she remarked "There is no doubt however that it is nearer to Corticium than to Tulasnell". She refrained from making the necessary alteration in the name as she was aware that the present writer was already investigating the fungus and was shortly intending to publish on the subject. The following month Rogers (1932) published "A cytological study of Tulasnella". He inserted a brief morphological description and some figures (pp. 96 and 97) of T. anceps although the only material at his disposal had been a portion of the type collection from Germany and this limitation had precluded an investigation of the cytological phenomena. He stated that the spores regularly germinate by the formation of secondary spores. He discussed the affinities of T. anceps (p. 101) and considered it to be transitional between Corticium and Tulasnella. He did not, however, transfer the species but he did emphatically state in conclusion, "In any event, the fungus distributed by Sydow is not a Tulasnella". Thus it was left to the present writer (Gregor, October 1932) to sum up the evidence and transfer T. anceps to the genus Corticium, retaining it, however, as a distinct species since she was unable to accept Bourdot and Galzin's statement that it is identical with C. vaqum. One of the reasons for regarding the species as a Corticium was the fact that all basidiospores observed during cultural study had germinated by normal germ tubes and no secondary spores were developed. This decision upon the vexed question of the taxonomic standing of T. anceps has been supported by Rogers (1933, p. 203) in an article upon the Tulasnellaceae where he concludes with the remark "it may best stand, at least for the present, under the name Corficium anceps".

## Geographical distribution and natural hosts.

The disease has been recorded from Graal in Mecklenburg, Germany, and from Hillsborough, County Down, Northern Ireland. It has also been

found in four localities in Scotland, namely, near Milngavie, Dumbartonshire, Banff, Kilmun and Ballachulish, Argyllshire (Braid, 1934, p. 303). In all these places it was growing upon Bracken, but in the case of the Ballachulish record some neighbouring fronds of Male Fern (Aspidium Filix-mas) were also slightly infected.

## Description of the disease.

The disease occurs almost exclusively upon the frond of the Bracken and has never been seen to extend more than a few inches down the pet-

iole. It does not attack the rhizome and must not be confused with a *Conticium* sp. which is found not uncommonly on the base of Bracken petioles at ground level and which appears to be quite harmless.

The external mycelium of the parasite is only developed on the lower surface of the frond and it is here that the earliest symptoms of infection must be sought. The mycelium is first visible to the naked eye as minute white dots scattered irregularly over the lower surface of pinnae and rachis (Fig. 1). At this stage no discolouration of the tissues is produced and consequently this early phase of infection cannot be detected from the upper surface. The disease progresses fairly rapidly, and some twenty-four hours later the attacked regions begin to assume a brownish green colour which is vis-



Fig. 1.

Early stage of disease on Bracker, showing infection cushions.

Artificial infection.

2 approx.

ible also on the upper surface. This discolouration becomes more intense and gradually changes to a greyish brown as the pinnae die and commence to shrivel. The change in colour is correlated with the spread of the mycelium over the lower surface of the frond, which eventually becomes covered with a whitish felt-like mat of the fungus (Fig. 2). As the frond dies this mycelial weft changes colour somewhat, assuming a brownish tinge. Those portions of it which develop on the rachis and petiole can early be separated from the underlying tissues by gently scraping them with the finger nail, when they peel off like a thin skin. At about this stage, or occasionally somewhat earlier, sclerotia commence to form on the severely

infected portions of the frond (Fig. 2). They are at first white or creamcoloured with a slightly fluffy outer surface; in the course of their development they exude drops of fluid which range from colourless to a pale

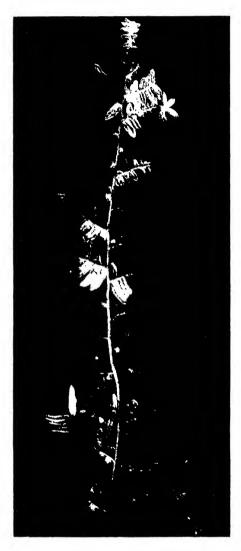


Fig. 2.

Later stage of disease on Bracken, showing young sclerotia.

Natural infection.

amber tint. Later the colour of the sclerotia changes to light brown, and when guite mature they are dark brown with a smooth hard exterior. If a recently matured sclerotium is cut in half it is found to be of a cheese-like consistency. It has a thin brown wall surrounding a lighter cofoured core which is often studded with small glassy areas just visible to the naked eve. With increasing age the core becomes darker coloured until finally, after several months, the sclerotia are dark brown throughout, and rather hard and brittle. They vary greatly in size but rarely exceed about 4 mm. in diameter except when several become confluent.

The dead pinnae are very brittle and readily break off, thus in severe cases the frond is reduced to a mere skeleton consisting only of discoloured rachis and a tew tatterred remnants of the pinna: (Fig. 3). In spite, however, of the drastic effects of the disease upon the individual fronds, it does not lead to any noticeable reduction in the vigour of the plant as a whole. The rhizome is not attacked by the fungus and, although it must be somewhat weakened by the destruction of the fronds, it is still able to continue its growth and to form new fronds. No doubt if the disease were to continue with

unabated vigour for a number of years, the Bracken would ultimately succumb, but it has been found that the disease varies in its severity from

year to year, being very markedly affected by climatic conditions, particularly rainfall. During the wet summer of 1931 it was very prevalent within the affected areas, and the patches of infected Bracken could easily be recognised at a distance by the bare appearance due to the destruction of the entire leafy portion of the frond (Fig. 4). The drier seasons of 1932, 1933 and 1934, however, seriously restricted the development of symptoms and when the individual fronds were examined it was found that the external mycelium was not nearly so well developed, sclerotia were not so abundant and the majority of the diseased pinnae were still attached to the rachis although markedly discoloured. Late in

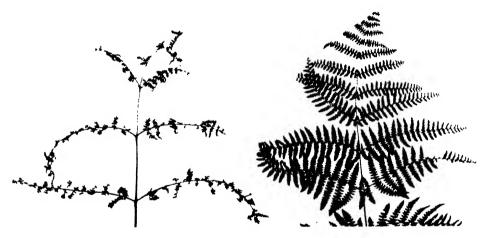


Fig. 3.
Comparison of diseased and healthy Bracken fronds.
Natural infection.

the season it was sometimes difficult to distinguish diseased fronds from those healthy ones which were changing colour at the approach of autumn, but careful comparison showed that the disease induced a greyish or blackish brown discolouration fairly distinct from the natural yellows or reddish browns of autumn.

The striking influence of atmospheric moisture upon the development of *Corticium anc 'ps* probably accounts in part for the fact that the disease has always been found in sheltered localities in the vicinity of trees, while the Bracken on exposed hillsides close to diseased areas has remained perfectly healthy. It is, however, possible that shade may also exercise some beneficial effect upon the growth of the fungus or may predispose the Bracken to attack, in this way playing a part in restricting the distribution of the parasite.

The disease upon Male Fern was studied from a single consignment of material collected by Professor K. W. Braid, and it proved impossible to obtain further supplies. The attack had not progressed very far, but the little white dots of mycelium were abundant, in this case occurring on the upper as well as on the lower surface of the frond, and there was extensive discolouration of the affected tissues. No sclerotia had developed and the external mycelium was not sufficiently luxuriant to form a covering over the surface as in the later stages of the disease on Bracken.

## Microscopic study of the parasite in relation to its host.

The younger hyphae of *Corticium anceps* are colourless and somewhat flexuous though of fairly uniform diameter; they contain dense protoplasm with relatively few granules. As maturity is reached they become more



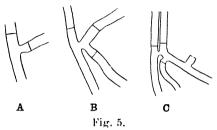
Fig. 4.
Diseased Bracken on Kilmun Hill, argyllshire.
Infected fronds in the foreground, healthy ones in the background,
Photographed August 1931.

rigid and exhibit a slight tendency to be associated into loose strands. They measure 3– 7  $\mu$  in diameter and transverse septa occur at intervals of about 50–200  $\mu$ . Older hyphae often assume a yellowish tinge and the walls are somewhat thickened; their protoplasm is vacuolate and very granular, or, in some cases, the lumen may be almost devoid of protoplasm. Branches arise approximately at right angles to the main hyphae and a transverse septum is laid down at a distance of 5–10  $\mu$  from the point of origin (Fig. 5 A). These branches are invariably constricted at their junctions with the main hyphae and when older they readily break off at the first partition wall. Sometimes a secondary branch arises almost from the base of the primary one, and in such cases the primary branch becomes

considerably displaced and no longer lies at right angles to the main hypha (Fig. 5B). Mycelial fusions between adjoining hyphae are relatively common (Fig. 5C) but no clamp connections have been observed.

In the earliest phase of the disease the mycelium creeps over the lower surface of the Bracken frond but remains entirely external. Soon, however, the hyphae become aggregated in certain areas to form small

stromatic bodies which, as already stated, are visible to the naked eye as minute white dots. These structures are infection cushions, and their function is to effect the penetration of the host. They are convexo-discoidal in form and the flattened surface adheres closely to the underlying tissues of the host plant



Hyphae of Corticium anceps.  $\times$  400.

(Fig. 6). The mature cushions measure about 0.07—0.3 mm, in diameter and 0.04—0.07 mm, in thickness. There is no differentiation into cortex and medulla, the entire structure being colourless with no definite outer wall. A number of branches near the base of the cushion grow in a more or less vertical direction towards the epidermis of the host plant. The outer walls of the affected epidermal cells turn yellow, the vertical hyphae pierce them and grow through into the inner tissues. Not only are the

pinnae attacked in this manner but also the rachis, for the infection cushions can even bring about the invasion of the thick-walled sclerenchyma cells of the axis. Although the infection cushions probably constitute the most important method of penetration, it is quite common to find individual hyphae entering the tissues by means of the stomata. both on the lower surface of the pinnae and also along the lateral bands of stomata on each side of the rachis. As soon as the invasion of the host plant com-



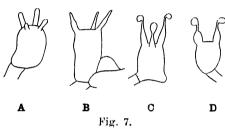
Fig. 6.
Transverse section of a Bracken pinna bearing an intection cushion.

190.

mences, the affected areas of the frond become discoloured in the manner already described.

The hyphae which enter the plant resemble those of the external vegetative mycelium except for the facts that they are sometimes of less diameter, they remain colourless and do not become associated into loose

strands. They grow both in the cells and intercellular spaces, and penetrate all the tissues, though they are usually most abundant in the parenchyma. They are markedly constricted at the points where they pass through a cell wall, this being particularly noticeable in the case of thickwalled cells such as sclerenchyma or xylem. It is strikingly illustrated if a section through an infection cushion upon the rachis is examined. The outer walls of the sclerenchyma cells underlying the cushion are pierced by a number of minute canals through which the invading hyphae pass, becoming distended again to their normal size as they emerge into the cavities of the cells. In the later stages of infection many of the older hyphae disintegrate, leaving the cell walls perforated by innumerable tiny holes. Microchemical tests show that the lignin or cellulose in the



Basidia of Corticium anceps, showing stages in development of sterigmata and spores. \$\times 800.\$

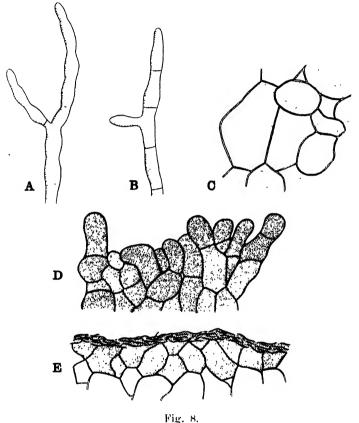
area immediately surrounding these holes has not been destroyed by the fungus.

Meanwhile the superficial mycelium continues to spread over the lower surface of the frond, creeping over the healthy tissues in advance of the invading internal hyphae. It gives rise to a dense felt-like covering on the discoloured portions of the frond, and on this mycelial mat the basidia are

formed. Sometimes the development of the external mycelium proceeds so rapidly that basidial formation commences before penetration of the host plant has been effected. Under favourable conditions basidia develop abundantly on the hyphae of the receptacle. The measurements published by Sydow (1910, p. 490) have been confirmed by the present writer. The basidia are usually terminal and consist of rounded, oblong or pyriform cells. From two to four rounded protuberances appear on the summit of each basidium, and these gradually elongate but remain at first uniform in diameter (Fig. 7A). Later the apices taper to a point (Fig. 7B) while the middle portion often becomes somewhat swollen. The extent of this swelling varies markedly on different basidia; Fig. 70 may be regarded as the typical form of the sterigmata while Fig. 7D depicts the most swollen sterigmata ever observed in the course of the present work. This point is of considerable importance in determining the taxonomic position of the fungus. The sterigmata are not separated from the basidium by septa. Swellings develop on the tips of the sterigmata (Fig. 7C & D) and enlarge until they become the mature basidiospores. These are colourless and approximately oval in shape, though somewhat flattened on one side and with a marked apiculus. They very readily become detached from the

sterigmata, consequently it has proved impossible to obtain drawings of mature spores in situ.

At about this stage of the disease sclerotia commence to form, and the general course of their development has already been described. They originate from a number of hyphae which differ from the ordinary mycelium in being rather irregular in diameter, swollen portions alternating with constrictions (Fig. 8A). These hyphae also branch repeatedly, more



The development of the sclerotium of Corticium anceps. 500

or less at right angles, and thus soon form a dense mass. Very numerous transverse septa are laid down, most commonly at the constricted points of the hyphae (Fig. 8B); the short segments between them continue to swell and the walls become decidedly thickened. When growth ceases the lighter coloured core consists of large colourless or very pale cells which are often angular in form due to the pressure of the neighbouring cells. Intercellular spaces are abundant in this tissue (Fig. 8C). The peripheral zone is composed of closely adpressed, colourless, non-septate hyphal tips, but with the cessation of growth these soon turn yellow and then brown

while their walls become dark brown. Meanwhile transverse septa have been laid down, dividing the hyphae into short segments which are approximately oval or spherical in form due to the swollen nature of these hyphae (Fig. 8D). The wall of the sclerotium is at first composed of several layers of these brown cells, but as it dries the outermost cells shrivel and their walls collapse. Thus the wall of a mature sclerotium consists of a smooth hard brown outer skin made up of collapsed cells, and beneath this one or two closely packed layers of small brownish cells (Fig. 8E). The latter are not sharply delimited from the larger colourless cells of the core, but rather there is a gradual transition from one type of cell to the other. With advancing age, however, the brown colouration extends throughout the central mass of the sclerotium and the walls of the large core cells become brownish while their contents assume a yellowish tinge.

## Germination of basidiospores.

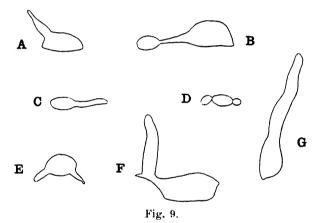
The method of spore germination is a feature of particular interest in the life history of *Corticium anceps*, for it further emphasises the fact, already mentioned, that this species is in some respects intermediate between the genera *Corticium* and *Tulasnella*. In the former genus the spores normally germinate by a typical germ tube while in the latter they form secondary spores borne on short promycelia. *C. anceps*, however, exhibits both types of germination under appropriate conditions although, in the writer's experience, germ tubes were developed more often than secondary spores.

During the course of the present work many hundred spores of Corlicium anceps have been germinated in culture. They were sown on malt extract agar and Bracken extract agar, and were placed in hanging drops of tap water, sterile water and various concentrations of malt extract solution and cane sugar solution. In every case these gave rise to ordinary germ tubes (Fig. 9 G) and no secondary spores were formed. They germinated after about four hours in hanging drops of sterile water, and the spores became slightly swollen before germination. The germ tube arose most commonly from the distal end of the spore, but sometimes from the other end or from the side. As a rule only one germ tube was formed by each spore in the earliest phase of germination, but it was not unusual to find a second one developing later. After twenty-four hours in sterile water the germ tubes measured up to 85  $\mu$  in length; they were somewhat flexuous but fairly uniform in diameter.

Sydow (1910, p. 490) and Rogers (1932, p. 97) both stated that the basidiospores of *Corticium anceps* always germinated by the formation of secondary spores, but neither of these authors grew the fungus in culture and their descriptions were based upon an examination of material col-

lected by Sydow, in which a number of spores were germinating on the hymenium by the production of secondary spores. The writer accordingly examined one of Sydow's specimens of this species in the Mycological Herbarium at the Royal Botanic Garden, Edinburgh, and, after some search, discovered a few spores forming secondary spores; they were, however, comparatively rare on this specimen, the majority of the spores not having germinated while a few were developing normal germ tubes.

The principal source of the living material used during the present investigation has been Kilmun, Argyllshire, but secondary spore formation was never observed on this material. During the summer of 1934, however, the writer visited the outbreaks of disease in Northern Ireland and near Milngavie, and from both of these obtained specimens bearing good examples of this type of germination; it occurred comparatively commonly on the Irish material but was less frequent on the Scottish. The conditions



Germination of basidiospores and secondary spores. >< 1000

which induce this method of development are not known, but apparently when mature spores remain lying on the hymenium under the appropriate conditions, a certain proportion of them germinate by repetition. A short process arises from any part of the spore, and gradually elongates and tapers to a point (Fig. 9A). A swelling now appears at the tip and enlarges until it becomes and ovoid spore, very similar to the one from which it arose only appreciably smaller (Fig. 9B). Unfortunately it has not been possible to ascertain whether the promycelium can form another secondary spore after the first has become detached because, as soon as the spores are removed from the hymenium for observation, this type of germination ceases abruptly. If kept in hanging drops of water these spores bearing promycelia may either develop no further, or they may form a germ tube from another part of the spore (Fig. 9E), or even from the promycelium itself (Fig. 9F). This germ tube then continues to grow in a perfectly normal

manner but the promycelium remains unaltered and functionless. When the secondary spores are themselves transferred from the hymenium to water they sometimes germinate by means of an ordinary germ tube (Fig. 9C) or they may bud like yeast cells (Fig. 9D). Secondary spores exhibiting one or other of these modes of development have not infrequently also been found on the hymenium. Occasionally, however, rather small spores bearing promycelia were observed and these may have been secondary spores forming tertiary spores, on the other hand they may merely have been unusually small basidiospores.

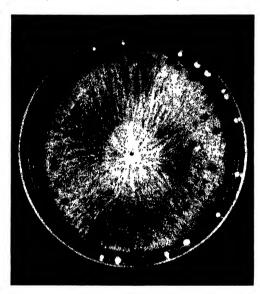


Fig. 10.
Culture of Corticium anceps on malt extract
agar, showing infection cushions on the glass
and sclerotia in all stages of development.

2 s nat. size.

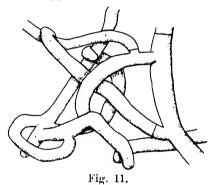
### Culture studies.

Monospore cultures growing on 5% malt extract agar (pH 6.3) attain a diameter of 0.8-1.0 cm. after six days at 24° C. The mycelium is loose and white with a moderate development of aerial hyphae; it exhibits a slight tendency to zonation and to the formation of loose mycelial strands. At no stage is there any staining of the medium. When the hyphae reach the edge of the agar they grow on to the glass of the tube or petri dish, but here the growth is sparser and adheres closely to the substratum. Large numbers of mindisc-shaped aggregations of hyphae are formed on the glass (Fig 10), these being ap-

parently the equivalent of the infection cushions upon the living host plant. Sclerotia commence to form after about nine days and are completely matured when the cultures are about twenty-three days old. They are usually produced first on the surface of the medium and later on the glass (Fig. 10), the course of their development being exactly similar to that observed under natural conditions. The depth of the medium in a plate culture has a marked influence on the number of sclerotia produced. If the medium is shallow and dries up rapidly sclerotia may be entirely absent, but if it is deep sclerotia will develop abundantly. Cultures derived from different basidiospores and grown under identical conditions sometimes show slight variations with regard to the abundance and rate of development of sclerotia.

When sclerotia form on the glass of the culture vessel they may arise in an isolated position or they may develop among the numerous pre-existing infection cushions. In the latter case it sometimes looks as if they were actually formed by the renewed growth of some of the infection cushions. For this reason a careful comparison was made between the two structures and the writer came to the conclusion that they are fundamentally distinct. In their earliest stages of development they closely resemble each other, but the infection cushion is usually cream-coloured and rather dense and waxy in appearance, while the rudimentary sclerotium is white and of a somewhat looser, fluffier texture. Microscopically it is seen that the infection cushion is composed of a dense knot of twisted, branched hyphae which may be slightly irregular in diameter and are divided by fairly numerous transverse septa. These hyphae, however, are not so

swollen, many-septate or irregular in thickness as those of a young sclerotium and the segments between the septa do not become swollen nor their walls thickened (Fig. 11). The margin of the infection cushion is commonly formed by the sides of the curving, twisted hyphae and only occasional hypha tips project. This gives the cushion a more definite outline than that exhibited by a young sclerotium (Fig. 8D). The mature infection cushion gradually changes to a light brown col-



Rudiment of infection cushion from glass of culture tube. × 1000.

our, the sclerotium, on the other hand, grows to a much greater size before changing colour. When a sclerotium develops closely adpressed to or on top of an infection cushion the two structures frequently remain distinct and can be easily separated, but sometimes the sclerotium unites with the infection cushion in the course of its growth, and in such cases may give the impression that the sclerotium has actually arisen from the infection cushion.

No basidia developed in any of the monospore cultures studied so, acting on the assumption that the fungus might be heterothallic, these cultures were combined in pairs, but in no case were positive results obtained. An extensive series of cultures was made upon a variety of media in the hope of inducing the development of basidia and spores. The usual malt extract agar was acidified with lactic acid to pH 5 and pH 3.6. The organism was also cultivated upon pieces of Bracken, both sterilised and unsterilised, on soil, sand, plain 1.5% agar and malt extract agar to which one of the following substances had been added: 0.1% glycerine, 0.1% raffinose, 0.02% pepsin. Not only were monospore cultures transplanted on to

these media but in many cases also paired monospore cultures and sometimes sclerotia or mycelium taken direct from diseased Bracken bearing basidia and spores of *Corticium anceps*. The fungus was able to grow upon all of the media employed though considerable differences were noted as regards the denseness of the mycelial mat and the relative abundance of sclerotia upon the various substrata. Growth was good upon moist soil but it ceased altogether if the soil was allowed to dry. No basidia, however, developed in any of the cultures, thus it is obvious that the conditions necessary to their development had not been reproduced in the experiment, for if the conditions had been suitable they should at least have formed in those cultures inoculated direct from diseased Bracken. The question of possible heterothallism, therefore, remains unanswered and further experimentation will be required before any decision can be reached on this subject.

## Experiments with sclerotia.

The sclerotia of *Corticium anceps* probably represent an important phase in the life history of the fungus because they are able to withstand adverse conditions which would readily destroy the delicate superficial mycelium. For this reason a series of experiments was carried out in order to obtain some data on the powers of germination and the degree of resistance possessed by these bodies. Some of the results were found to vary slightly according to the age and size of the sclerotia, but in general there was little divergence from the conclusions which are briefly stated in the following paragraph.

Both the marginal and the central cells of the sclerotium can give rise to a new mycelium, but germination was observed only from relatively large groups of cells, never from isolated ones. The sclerotia germinate readily on any of the media employed, including moist soil. Mature sclerotia can be immersed in 1:1000 mercuric chloride for five minutes without sustaining any injury, and individual sclerotia germinate even after twenty-five minutes of such treatment. They were still viable after they had been subjected to a temperature of -3° C. for six months or to - 20° C. for one month. Sclerotia were uninjured by immersion for fifteen minutes in water at a temperature of 40.5° C, but they were killed at 45.5° C.; if heated in air for the same period they all remained viable up to 57.5° C. and a few survived up to 64.5° C. Germination was appreciably retarded by prolonged air drying at room temperature, nevertheless sclerotia germinated after three days of this treatment. Sclerotia which had over-wintered in the open upon dead Bracken were still viable when surface sterilised and planted on agar slopes.

## Infection experiments.

Infection experiments with Corticium anceps have been carried out over a period of four years upon a number of different hosts. The majority

of the plants utilised were ferns, but in view of the fact that Bourdot and Galzin regard this fungus as identical with  $C.\ vagum$ , which in turn many people consider synonymous with  $C.\ solani$ , infections were also attempted upon potato and tomato. The ferns were in most cases potted during the autumn or winter for use in the following summer. As a rule they were kept in the open until required, but the experiments were conducted either in the laboratory or in an unheated greenhouse. The potato and tomato plants were inoculated in a slightly heated greenhouse. The results of these experiments are summarised in Table I.

Table I.
Infection experiments with Corticium anceps.

Host plant		Results of inoculation	
	-	+   -	_
Pteridium aquilinum		24 40	)
Aspidium Filix-mas	. 111	9	5
A. spinulosum		7	в
A. aculeatum var. lobatum		5   14	4
Asplenium Trichomanes		12   11	1
Polypodium vulgare		4   4	4
Blechnum spicant		7	1
Cystopteris fragilis		4	7
Scolopendrium vulgare	. 1	7	1
Solanum tuberosum	.	0 40	)
S. Lucoversicum	. 1	0	6

It was found impossible to bring about infection unless the plants were kept in a moist, still atmosphere, so to achieve this they were covered by bell jars and sprayed every few days with sterile water from an atomiser. A small piece of mycelium or a sclerotium on a fragment of agar was laid on the lower surface of the frond or leaf without any preliminary wounding of the tissues; in the case of the potato and tomato, inoculations were also attempted on the stem. Better results were obtained if the inoculum was taken from a young, actively growing subculture than if an old culture was used. Experiments carried out in July and August usually gave a higher percentage of infection than those performed in May and June. The relatively large number of negative results on susceptible plants shown in Table I is due to the fact that the optimum conditions for infection were not at first understood.

A further series of infection experiments was conducted during 1933 in a shady glen near Innerwick, East Lothian. The inoculations were limited to *Pteridium aquilinum*, *Aspidium Filix-mas* and *A. spinulosum*, and it was obviously impossible to keep the plants covered and sprayed during the experiment. Unfortunately it was an unusually dry season and only negative results were obtained.

The course of the artificially induced disease was at first essentially similar to that already described from naturally infected material. Infection cushions were developed (Fig. 1), and after penetration the tissues became discoloured and died. In the case of Aspidium spinulosum, Asplenium Trichomanes, Polypodium vulgare and Scolopendrium vulgare infection cushions were formed on the upper as well as on the lower surface of the frond. The type of discolouration assumed as the plant succumbed to the disease varied somewhat in the different species. Sclerotia were often formed upon the dving fronds. In one respect, however, the artificially induced disease differed markedly from the natural infection, and that was in the entire absence of basidia and spores. This meant that the characteristic white felt-like mat of mycelium was not developed, and consequently the appearance of the lower surface of the diseased fronds was unlike that illustrated in Fig. 2. A possible explanation of this inconsistency may be the fact that the inoculations were carried out with monospore cultures, and if, as already suggested, the fungus proves to be heterothallic it is obvious that basidia and spores would not be formed upon a haploid mycelium.

#### Discussion.

A short paper dealing with the taxonomic position of Corticium anceps was recently published by the writer (Gregor, October 1932), and there is little that need be added to it here. The statement on page 464 that "the sterigmata were usually quite small" requires correction. The sterigmata are, when mature, unusually large for a Corticium though not nearly so swollen as those of a typical Tulasnella. The error arose from examination of immature material. The negative results, obtained during the present work, from infection experiments on potato and tomato provide some further evidence to support the writer's previous contention that C. anceps is distinct from C. vagum (C. solani).

In some respects the disease caused by Corticium anceps bears a striking resemblance to Pink Disease (C. salmonicolor Berk. et Br.), which is a serious scourge of many tropical plants both wild and cultivated. Rant (1912) has described the course of infection by that fungus which, like C. anceps, remains for a time entirely superficial and saprophytic, but soon forms infection cushions and becomes parasitic. Basidia are developed superficially after penetration has been effected, and these form an almost continuous incrustation upon the bark. The chief points in which C. salmonicolor differs from C. anceps are the absence of sclerotia and the presence of a conidial stage. As with C. anceps, Pink Disease is markedly affected by external conditions, particularly atmospheric moisture. Rant suggests that the resistance or susceptibility of a plant is to some extent determined by its habit of growth, those with dense foliage which holds

the water vapour being more susceptible than those with widely separated leaves. If his supposition should be correct it might provide an explanation for the fact that many more ferns proved susceptible to *C. anceps* when infected artificially under optimum conditions of moisture than have been found diseased in their natural surroundings. Both *C. salmonicolor* and *C. anceps* show no physiological specialisation: the fungus isolated from Bracken caused infection upon all the other ferns inoculated, and there is no reason to suppose that the host range of this parasite could not be considerably extended among the Filicales if further experiments were instituted.

The infection cushions of *Corticium anceps* recall the 'corps miliaires' described by Prillieux (1891) in the case of *Rhizoctonia Crocorum* (Pers) DC. In the former species, however, the cushions show no differentiation into cortex and medulla, the entire structure being colourless, thus they bear no resemblance to mature sclerotia and cannot be confused with them, as was the case in the earlier studies of *R. Crocorum*.

It has been shown by experiment that the sclerotia of *Corticium anceps* remain viable even after exposure to the rigorous conditions of winter, and it is also known that they can germinate and give rise to a mycelium on the surface of the soil. If the attack took place at ground level the infection of the young Bracken in early summer would be a comparatively simple matter, but this is not the case. The growing fronds, however, have to force their way up through soil which may be covered with the mycelium of the parasite, and after they emerge, they must often still pierce a mat of old dead fronds bearing sclerotia. It seems reasonable to suppose, therefore, that infection might take place at this stage. A further possibility is that the mycelium growing saprophytically on the soil might, under certain conditions, form basidia and spores, the latter giving rise to infection of the young fronds. The author has, however, been unable to verify either of these suppositions owing to the lack of facilities for extensive field work.

Although Corticium anceps apparently does not effect a permanent eradication of Bracken under the climatic conditions of Great Britain, yet its life history exhibits features of general interest to plant pathologists. The writer is aware that the present paper is, in certain respects, incomplete, but the fact that no detailed description of this disease has ever appeared in print seems sufficient reason for publication at this time. It is hoped, however, to devote some further study to the problem of the possible heterothallic nature of this fungus.

## Zusammenfassung.

Corticium anceps lebt parasitisch auf den Wedeln verschiedener Farnkräuter. Dieser Pilz ist in der Natur nur auf Pteridium aquilinum und Aspidium Filix-mas gefunden worden, Infektionsversuche aber sind gelungen auch auf A. spinulosum, A. aculeatum var. lobatum, Asplenium Trichomanes, Polypodium vulgare, Blechnum spicant, Cystopteris fragilis und Scolopendrium vulgare.

Das Myzel wächst zuerst ganz oberflächlich, dringt aber bald in die unterliegenden Gewebe ein. Das Eindringen erfolgt hauptsächlich mittels Infektionskissen, zu einem gewissen Grad jedoch auch durch das Eintreten der Hyphen in die Spaltöffnungen. Die befallenen Teile werden getötet und die verwelkten Fieder brechen leicht ab, so daß bei schweren Fällen außer den Mittelrippen wenig übrig bleibt.

Die Basidien entstehen oberflächlich und bilden einen weißen filzigen Überzug an der Unterseite der Wedel. In den späteren Stadien der Krankheit kommen auch Sklerotien vor, welche nach der im Freien auf abgestorbenen Adlerfarnwedeln erfolgten Überwinterung ihre Keimfähigkeit beibehalten und zu einem neuen Myzel auf dem Boden auswachsen können.

Unter gewissen Verhältnissen keimen die Basidiosporen schon auf dem Hymenium; die Keimung erfolgt entweder durch Bildung von Sekundärsporen auf kurzen Promyzelien, viel häufiger aber durch direktes Auswachsen zu einem Keimschlauch. Der Pilz läßt sich leicht auf verschiedenen Nährböden kultivieren und bildet hier zahlreiche Sklerotien, aber keine Basidien.

Die Krankheit wird durch klimatische Bedingungen, besonders Luftfeuchtigkeit, stark beeinflußt. Soweit sich bisher sagen läßt, bedeutet die Krankheit keine ernste Gefährdung der Adlerfarnbestände in dem Klima von Großbritannien.

The writer wishes to acknowledge gratefully the assistance received from Mrs. N. L. Alcock and Professor K. W. Braid during the course of this investigation. Special thanks are also due to Miss E. M. Wakefield for valuable advice and criticism of the manuscript. Mr. A. Grant and Mr. A. E. Muskett both kindly co-operated in the collection of material.

### Literature cited.

- Bourdot, H. and A Galzin, 1928 Hyménomycètes de France. Paris
- Braid, K. W., 1934 History of the Bracken disease Scot Journ Agri, XVII, 297-305 Gregor, M. J. F., 1932 (March). The possible utilisation of disease as a factor in Bracken
- control Scot. For Journ, XLVI, 52-59.

  --, 1932 (October). Observations on the structure and indentity of *Tulasnella anceps*Bres et Syd. Ann. Myc., XXX, 463-465
- Piillieux, E, 1891. Sur la pénétration de la Rhizoctone violette dans les racines de la betterave et de la luzerne Compt. rend acad Paris, 113, 1072—1074
- Rant, A. 1912. Über die Djamoer-oepas-Krankheit und über das Corticium jasanicum Zimm Bull du Jar Bot. Buitenzorg, Sér 2, No IV
- Rogers, D. P., 1932 A cytological study of *Tulasnel'a* Bot Gaz XCIV, 86 105—, 1933. A taxanomic review of the Tulasnellaceae Ann. Myc., XXXI, 181—203
- Saccardo, P A, 1912 Sylloge Fungorum, XXI, 452-453
- Sydow, H, 1910. Mycotheca germanica Fasc. XVIII—XIX (No. 851—950). Ann Myc, VIII, 489—493.
- Wakefield, E. M., 1932 The Belfast Foray. Sept 5th-12th, 1931. Trans Brit Mycol Soc., XVII, 5-15.

## Aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.

# Die Bechholdsche Kupferprobe als diagnostisches Hilfsmittel zur Beurteilung des Gesundheitszustandes von Kartoffelknollen.

Von

#### M. Klinkowski.

(Mit 10 Abbildungen.)

In halt: 1. Einleitung. — 2. Abänderungen der Bechholdschen Versuchsanstellung. —
 Indexwert der Bechholdschen Kupferprobe und Gesundheitszustand der Kartoffelstaude. —
 Die Anwendungsmöglichkeit der Bechholdschen Kupferprobe bei tiefen Temperaturen. — 5. Versuche mit Holzstäbehen anstelle des Kupferbleches. — 6. Zusammenfassung der Ergebnisse.

## 1. Einleitung.

Nachdem im Jahre 1929 unter der Leitung von Herrn Reg.-Rat Dr. F. Merkenschlager die Arbeiten über den Abbau der Kartoffel an der Biologischen Reichsanstalt in größerem Umfange aufgenommen worden waren, sind später auch auswärtige Stellen in diese Arbeit einbezogen worden. Im Rahmen dieser Arbeitsgemeinschaften (1) veröffentlichten Bechhold und Erbe (2) Studien über die Kolloidstruktur der Kartoffelknolle und wiesen in dieser Arbeit, auf Grund ihrer bisherigen Anwendungsergebnisse, auf die "Kupferblechprobe" als Unterscheidungsmittel zwischen Vital- und Abbauknollen hin.

Bei der Bechholdschen Kupferprobe nimmt man einen Streifen Kupferblech (1 cm breit und 10 cm lang) und steckt ihn längs durch die Knolle, sodaß an beiden Enden ein Stück herausschaut. Dann legt man die Knolle, in welcher das Kupferblech steckt, in eine im Thermostaten vorgewärmte feuchte Kammer und stellt diese dann wieder in den Thermostaten. Hier bleibt die Knolle acht Stunden lang bei einer Temperatur von 38° C. Nach Ablauf dieser acht Stunden nimmt man die feuchte Kammer aus dem Thermostaten heraus und läßt sie dann 16 Stunden in einem Raum mit gewöhnlicher Zimmertemperatur, d. h. 18° bis 20° C, stehen. Ist die Zeit verflossen, dann zieht man das Kupferblech aus der Kartoffel heraus und schneidet die Knolle in zwei Teile. Dabei führt man den Schnitt in der Richtung des Einstiches quer zur früheren Lage des Kupferbleches.

Auf der Schnittfläche erkennt man längs des Einstichkanals im Fleisch der Knolle eine mehr oder weniger stark gefärbte Zone, die vornehmlich bräunliche oder rötliche Töne zeigt und an der Luft bis dunkelgrau oder schwarz nachdunkelt. Die Ausdehnung der Verfärbung ist nach der bisherigen Annahme kennzeichnend für den Gesundheitszustand oder den Abbaugrad der untersuchten Knolle: Die "abgebaute" Knolle zeigt keine oder nur eine Spur von Verfärbung, dagegen ist die gesunde Knolle im typischen Falle in einem breiten Hof um den Einstich herum dunkel verfärbt.

Da das Institut für Kolloidforschung in Frankfurt (Main) keine Möglichkeit besaß, diese Untersuchungsergebnisse an einem größeren Material auf ihren praktischen diagnostischen Wert zu prüfen, wurden diese Untersuchungen im Botanischen Laboratorium der Biologischen Reichsanstalt in Berlin-Dahlem bearbeitet und später im Laboratorium für Pflanzenzüchtung und angewandte Vererbungslehre fortgeführt. Für die stete Unterstützung dieser Arbeiten möchte ich Herrn Reg.-Rat Dr. F. Merkenschlager an dieser Stelle meinen besten Dank abstatten.

Aufgabe der Untersuchungen war die Beantwortung der Frage, ob sich aus dem Ausmaß der Verfärbung einer Kartoffelknolle (ausgedrückt durch den Indexwert) bestimmte Rückschlüsse auf den Gesundheitszustand der daraus wachsenden Kartoffelstaude ziehen lassen und ob die Bechholdsche Kupferprobe zur Prüfung des Gesundheitszustandes einer Kartoffelherkunft herangezogen werden kann. Der Vorteil dieser Methode würde in der Schnelligkeit der Durchführung und der einfachen Handhabung der Methode liegen, die es erlaubt, mit geringem Aufwand verhältnismäßig große Mengen zu prüfen.

## 2. Abänderungen der Bechholdschen Versuchsanstellung.

Die von Bechhold und Erbe beschriebene Versuchsmethodik wurde bei den in Berlin-Dahlem durchgeführten Versuchen in einigen Punkten abgeändert. Das Kupferblech ist nicht nur bis zum Knollenzentrum oder etwas darüber in die Knolle hinein, sondern durch die ganze Knolle hindurchgeführt worden. In mehreren Versuchsreihen hatte sich beim Vergleich von Kronen- und Nabelende der Kartoffel übereinstimmend gezeigt. daß sowohl der Kronen- wie auch der Nabelteil der Knolle stärkere Verfärbungszonen aufweisen können, während gleichzeitig am entgegengesetzten Pol keine oder eine nur schwache Verfärbungszone wahrzunehmen ist. Wird das Kupferblech also nur in eine Hälfte der Knolle eingeführt, so ergeben sich bei der Auswertung der beiden Knollenhälften unterschiedliche Werte. Knollen mit mehr oder minder großen einseitigen Verfärbungen (d. h. mehr am Nabelende bzw. am Kronenende) treten nicht selten auf und können so den Gesamteindruck wesentlich beeinflussen. Wir haben daher in allen unseren Versuchsreihen die ganze Knolle zur Beurteilung herangezogen, indem wir das Kupferblech durch die Knolle hindurchführten. Bei der Auswertung der Knollen bedienten wir uns in unseren Versuchsreihen des Bewertungsschlüssels, den Bechhold und Erbe in ihrer Arbeit angegeben hatten. Um auch die Übergangsstadien besser erfassen zu können, haben wir weitere Aufteilungen vorgenommen (0-+,+-++,++-+++), die wir mit den Zahlenwerten 50, 150 und 250 gleichstellten.

Bewertet man die Verfärbung ausschließlich nach der Breite der verfärbten Zone und schätzt dabei eine mittlere Breite, so wird stets ein

größerer Fehler in Rechnung zu setzen sein. Der Nachteil bei dieser Art der Auswertung besteht vor allen Dingen darin, daß eine genaue Beurteilung der einzelnen Knolle nicht möglich ist. So ergeben sich z. B. Schwierigkeiten bei der Bewertung von Knollen, die nur eine Verfärbung an einem Teil des Stichkanals aufweisen im Vergleich zu anderen, die eine gleichmäßige Verfärbung der Fläche um den ganzen Stichkanal herum zeigen. Andererseits wurden zwei Knollen, die eine mittlere Breite der Farbzone von 7,5 bzw. 15 mm aufwiesen, nach der bisherigen Methode Verfolg der ersten Untersuchungen von Bechhold und Erbe annehmen. daß die Verfärbungsintensität der Kartoffelknolle gewisse Rückschlüsse auf den Gesundheitszustand gestattet, dann dürfen wir vorerst nicht übersehen, daß den oben genannten Wertunterschieden schon Unterschiede im Gesundheitszustand der Kartoffelknollen entsprechen können. Um diese Fragen aufzuklären, haben wir einen neuen Bewertungsschlüssel ausgearbeitet, mit dessen Hilfe wir genaue Zahlenwerte für die einzelne Knolle erhalten. Die Auswertung erfolgt in der Weise, daß in Beziehung gesetzt wird die planimetrisch festgestellte Größe der verfärbten Fläche zur Länge des Durchstichkanals des Kupferbleches. Der so erhaltene Wert wird dann, um nur mit ganzen Zahlen zu rechnen, mit 100 multipliziert.

## $Index = \frac{Farbzone \times 100}{L\ddot{a}nge \ des \ Durchstichkanals}$

Wir setzten demnach anstelle der ursprünglichen groben Wertordnung mit anfänglich 4, später 7 Gruppen, also anstelle weitumfassender Variationsklassen und ungenauer Klassenwerte, eine Ordnung, bei der wir mit diskreten Varianten rechneten. Damit bekommen wir die Möglichkeit, für das Urteil über die Variation der Indexwerte einer Kartoffelherkunft viel genauere Unterlagen gewinnen zu können.

Bevor wir uns der Besprechung der eigentlichen Versuche zuwenden, soll noch auf einige Punkte hingewiesen werden, die bei der Handhabung der Methode zu beachten sind. Wichtig ist die Verwendung ganzer unverletzter Knollen, die im Knolleninnern keine Schädigungen durch Pilze oder Bakterien aufweisen dürfen. Eisenfleckige Knollen, die man erst nach dem Aufschneiden feststellen kann, müssen von der Bewertung ausgeschlossen werden, da um die einzelnen nekrotischen Gewebepartien Farbhöfe entstehen, die ein grundsätzlich anderes Bild als bei normaler Durchführung der Kupferprobe ergeben (3). Auch in peripheren Schichten von Knollen, welche von Pilzen besiedelt oder durch Druck und andere Verletzungen beschädigt sind, können Verfärbungen des Knollengewebes auftreten, die zu der eigentlichen Farbzone in keiner Verbindung stehen, also gänzlich isoliert auftreten.

Von der Verwendung halber Knollen ist abzuraten (siehe auch die spätere ausführliche Behandlung dieser Frage). Bei solchen wie auch bei kleinen Knollen findet das Kupferblech nicht den notwendigen festen Schluß, weil sich die Spannungsverhältnisse in der Knolle durch das Einstechen des Kupferbleches im Vergleich zur unverletzten Knolle stark ändern. Hat das Blech aber keine innige Verbindung mit dem Gewebe der Kartoffelknolle, dann hat das Ausmaß der verfärbten Zone nichts mehr mit dem Effekt der Vorbehandlung zu tun. Es muß daher auch beim Einstecken des Bleches in die Knolle darauf geachtet werden, daß das Blech selbst keine Unebenheiten aufweist und weiterhin, daß das Blech ohne jede Krümmung durch die Knolle geführt wird. Jede Unebenheit des Kupferbleches sowie jede Krümmung verursachen aus den obengenannten Gründen Versuchsfehler, die in bestimmten Fällen zu größerem Ausmaß und zu einer stärkeren Verschiebung des Gesamtbildes führen können. Auf die Frage, welche Bedeutung der Blechbeschaffenheit zukommt, soll später noch ausführlicher eingegangen werden.

Wenn sich bei der Durchführung größerer Versuchsreihen die Notwendigkeit ergibt, das Bild der verfärbten Kartoffelknolle in der Zeichnung zwecks späterer Berechnung festzuhalten, so ist darauf zu achten, daß die Zeichnung möglichst bald nach dem Aufschneiden der Kartoffelknolle angefertigt wird, da die Spaltweite des Stichkanals der aufgeschnittenen Kartoffel sich ständig vergrößert, bis schließlich der Spaltweit auseinanderklafft. Im Zusammenhang mit der Veränderung der Spaltweite ändert sich auch die Beschaffenheit des verfärbten Kartoffelgewebes, das sehr stark einschrumpfen kann. Beide Erscheinungen machen es so gut wie unmöglich, das ursprüngliche Bild der Kartoffelzeichnerisch wiederzugeben.

Für die Durchführung der Bechhold'schen Kupferprobe ist der Zustand der Kupferblechbeschaffenheit von größter Bedeutung. Verwendet man ein glattes, dünnes Kupferblech mit scharfer Schneide, ein zweites Mal ein dickes aufgerauhtes Blech, dessen Schneide stumpf ist, so ist nach der Wärmebehandlung im ersten Fall die schwarze Zone etwa um ein Drittel kleiner als im letzteren Fall. Dies wurde schon von Bechhold (4) festgestellt. In Übereinstimmung mit anderen Versuchsreihen zur Klärung dieser Fragen wurde nachgewiesen, daß nicht die Druckwirkung, sondern die Zerreißung der Zellen maßgebend für die Schwärzung nach der Wärmebehandlung ist. Wichtiger aber ist noch der Oxydationszustand, in welchem die Kupferblechstreifen für die Versuche verwendet werden.

Wir benutzten sorgfältig mit Schmirgelsteinen gereinigte Bleche, die bis zum Versuchsbeginn unter Sauerstoffabschluß aufbewahrt wurden. Daneben stellten wir derart gereinigte Kupferbleche in Lösungen von Perhydrol, wobei der freiwerdende Sauerstoff den Kupferblechstreifen mit einer Oxydationsschicht überzog. Wir benutzten also Kupferblech-

streifen, bei denen an der Oberfläche das Kupfer in reduziertem bzw. oxydiertem Zustande vorlag.

Tabelle 1.

		Kupferb	lechstreifen	
Sorte und Herkunft	Оху	diert	Redu	ıziert
Sorte und Herkuntt	Knollenzahl	Mittlerer Indexwert	Knollenzahl	Mittlerer Indexwert
	Parnassi	a		
Streckenthin	100	938,7	71	492,0
Streckenthin	97	454,4	100	216,7
	Industri	e		
Schlawe	100	733,0	101	598,2
Schlawe	100	348,9	100	211,6

Das Resultat dieser Versuche war auch beim Vergleich einzelner Knollen stets eindeutig. Knollen, in die ein oxydiertes Kupferblech eingeführt wurde, zeigten stets eine starke Vergrößerung der Verfärbungszone. Der Kupferblechstreifen war in allen Fällen nach der Durchführung der Kupferprobe vollkommen reduziert. Man muß daher in diesen Versuchen eine erhöhte Löslichkeit des Kupfers annehmen und damit eine vergrößerte zusätzliche Wirkung. Für alle weiteren Versuche wurden daher nur sorgfältigst gereinigte Blechstreifen verwendet.

Auch der Zustand, in welchem sich die Knolle zur Zeit der Versuchsanstellung befindet, ist von Einfluß auf das Ergebnis der Kupferprobe. Knollen, die während der Lagerung einen starken Wasserverlust erlitten haben, die z.B. längere Zeit bei höheren Temperaturen aufbewahrt wurden, weisen nur geringfügige Verfärbungen auf.

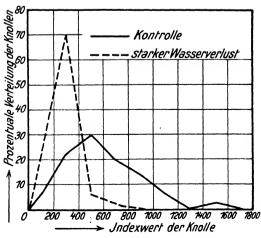


Abb. 1.

Der einfachste Weg zur Nachprüfung der Bechhold'schen Kupferprobe hätte darin bestanden, das Nabelende einer Kartoffelknolle mit Hilfe der Kupferprobe zu untersuchen, das dazugehörige Kronenende auszupflanzen und den Indexwert der einen Knollenhälfte mit dem Gesundheitszustand der aus der anderen Hälfte wachsenden Kartoffelstaude direkt in Vergleich zu setzen. Für diesen Versuch mußte erst eine Voraussetzung geklärt werden. Es stand die Frage offen, ob mit der Kupferblechprobe gleiche Werte zu bekommen sind, wenn eine Knolle in zwei Stücke geteilt wird und jedes Stück für sich der Probe unterworfen wird. Es handelt sich hierbei nicht um die Frage, ob zwei Stücke einer Knolle von Abbauerscheinungen mit gleicher Stärke befallen sind, denn das ist hier in diesem Versuch nicht endgültig zu entscheiden, sondern um die Frage, ob das Knollenstück, das man auspflanzt, dieselbe Reaktion wie der geprüfte Knollenteil gegeben hätte.

Zu diesem Zweck wurden mit Knollen der Sorte Direktor Johanssen (Herkunft Mechow) entsprechende Vorversuche in die Wege geleitet. Die Kartoffelknollen wurden durch Kronen-Nabelschnitt in zwei Hälften geteilt und am Abend vor Versuchsbeginn mit der Schnittfläche nach oben zur Bildung einer Korkschicht ausgelegt. Am anderen Morgen wurde das Kupferblech senkrecht zur Schnittfläche der Knollenhälfte längs in Kronen-Nabelrichtung eingesteckt, und zwar von der Schnittfläche her, in der Art, daß eine Längskante des Bleches schließlich in der Ebene der Schnittfläche lag. Nach Durchführung der Kupferprobe wurde der Kupferblechstreifen herausgezogen und eine Schicht von etwa 3 mm Dicke abgeschnitten. Bei der Durchführung des Versuches berücksichtigten wir von vornherein die hauptsächlichste Fehlerquelle und stellten uns die Frage, ob die Teilung der Knolle in zwei ungleich große Stücke bei der nachfolgenden Prüfung einen Einfluß auf das Ergebnis des Versuches hat. Wir achteten also bei der Teilung nicht genau darauf, daß wir die Knollen in wirkliche Hälften teilten, berücksichtigten aber bei der Auswertung des Versuches die Größendifferenz der Teilstücke derart, daß wir die Bonitierung in drei verschiedenen Gruppen durchführten, die nach der Differenz der Größe der beiden Teilstücke eingeteilt waren. Als Maß des einzelnen Knollenstückes wurde der größte Durchmesser senkrecht zur Schnittfläche angenommen, was in der nachfolgenden Tabelle als Dicke der Knollenstücke bezeichnet ist. Das Ergebnis dieses Versuches ist aus der nachfolgenden Tabelle zu ersehen.

Die Tabellen zeigen, daß schon bei gleichgroßen Knollenstücken eine Differenz zustande kommen kann. Eine Übereinstimmung ist in einzelnen Fällen möglich. Das Ergebnis dieses Versuches ist, daß die Differenz der Verfärbungsgrößen zwischen zwei zusammengehörigen Knollenstücken ebenso groß wie die Differenz zwischen verschiedenen Knollen ein und derselben Herkunft sein kann.

In der letzten Tabelle (2c), in einer Gruppe, in welcher die Knollenteile z. B. beträchtliche Unterschiede in der Dicke aufweisen, zeigen die "stärkeren Hälften" der Kartoffelknollen, bis auf einen Fall mit gleicher Reaktion, eine weitaus stärkere Verfärbung. Die Unterschiede in der

Tabelle 2a. Differenz der Dicken der Knollenteilstücke 0—1 mm.

Bezeichnung	gsschema
Breite der Farbzone in mm	Bewertung
0—1 1,5—3 3,5—7 > 7,5	0 + ++ ++

Knol	lenteil a	Kno	ollenteil b
Dicke in mm	Bewertung	Dicke in mm	Bewertung
20 15 28 28 16 22 23 28 17 17 17 15 14 22	++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	20 15 28 28 17 23 24 27 16 18 14 15 21	+ - ++ +++ +++ ++ - ++ ++ ++ ++ ++ ++ ++ ++ + - ++ + - ++ + - ++

Tabelle 2b. Differenz der Dicken der Knollenteilstücke 2—5 mm.

Kno	llenteil a	Kı	ollenteil b
Dicke in mm	Bewertung	Dicke in mm	Bewertung
16 20 18 24 22 14 18 18 25 20 29 18 28 25	+ - ++ 0 - + + + + + - ++ 0 - + + + 0 - + + + + + + + + + + + + +	21 22 20 20 19 11 16 13 23 22 27 16 25 21	+++ +++ 0 + +++ +++ +++ ++- ++ 0 + +

Tabelle 2c.								
Differenz	der	Dicken	der	Knollenteilstücke	mehr	als	6	mm.

Knol	lenteil a	Knollenteil b		
Dicke in mm	Bewertung	Dicke in mm	Bewertung	
17 18 14 27 16 18 43 26 16 19 35 17 25	0 - + + + - ++ + - ++ + - ++ +	27 31 24 19 31 32 17 16 28 28 27 24 19	++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	

Verfärbungsintensität erklären sich daraus, daß die Kupferblechstreifen z. T. eng anlagen und z. T. das Knollengewebe kaum oder überhaupt nicht berührten. Je dicker die entsprechende Knollenhälfte war, um so größer war die Berührungsfläche zwischen dem Kupferblech und dem Gewebe der Kartoffel, und dementsprechend größer war auch die Verfärbungszone. Bei einer Wiederholung dieses Versuches wurden die Knollenhälften, in welche der Kupferblechstreifen eingeführt war, mit einem breiten Gummiring umspannt, um auf diesem Wege den Kontakt zwischen Kupferblechstreifen und Knollengewebe durch Zusammendrücken der Knollen herzustellen. Auch diese Versuche führten zu keinem praktisch verwertbaren Ergebnis.

In einer dritten Versuchsserie mit Knollen der gleichen Sorte und Herkunft führten wir das Blech nicht senkrecht zur Schnittfläche in die Knollenhälfte ein, sondern steckten es parallel zur Schnittfläche in etwa 6—8 mm Tiefe durch die Knolle. Wir erreichten auf diese Art eine feste Lagerung des Kupferblechstreifens in der Kartoffelknolle, mußten aber andererseits den Nachteil in Kauf nehmen, daß wir nicht zwei ursprünglich benachbarte Gewebepartien, sondern zwei entfernter liegende Teile der beiden Knollenhälften prüften. In diesem Versuch wurde sowohl nach dem Bechhold'schen Schema bewertet als auch später der Indexwert errechnet. Nur in 10 % aller untersuchten Knollen sind Werte gefunden worden, deren Abweichungen gering waren. Bei allen übrigen Proben waren die Abweichungen z. T. sehr erheblich und betrugen vereinzelt mehr als 300 %.

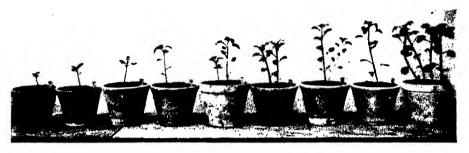
Es besteht zwar eine lose Beziehung in der Reaktion der beiden Knollenhälften, jedoch machen die z. T. erheblichen Schwankungen zwischen den zugehörigen Knollenhälften eine praktische Auswertung dieser Versuche unmöglich.

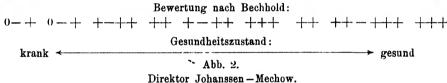
Tab	elle 3.
Vergleich von	Knollenhälften.

vergieich von Knottennatiten.								
Knollentei	l a	Knollente	il b					
Bewertung nach Bechhold	Index	Bewertung nach Bechhold	Index					
+ - + + + + + + + + + + + + + + + + + +	232 238 244 248 248 258 286 305 321 328 353 358 416 488 490 496 536 568 595 639 644 695 698 709 724 735 739 774 780 792 822 950 955 996 1070	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + +	227 343 375 511 619 773 261 610 861 183 426 419 254 600 918 274 233 234 258 427 832 733 282 539 513 695 587 218 899 899 890 634 310 236					

# 3. Indexwert der Bechholdschen Kupferprobe und Gesundheitszustand der Kartoffelstaude.

Nachdem die Versuche der Prüfung von Knollenhälften mit Hilfe der Bechholdschen Kupferprobe kein greifbares Ergebnis gezeitigt hatten, haben wir wieder die Untersuchungen mit ganzen Knollen angestellt und zum Auspflanzen in Vegetationsgefäßen wie auf den Versuchsfeldern der Biologischen Reichsanstalt in Berlin-Dahlem und Mechow (Prignitz) die geprüften Knollen selbst verwendet. Wir mußten dabei die Nachteile in Kauf nehmen, die sich aus der mehr oder minder großen Verfärbung des Knollengewebes und der achtstündigen Lagerung bei einer Temperatur von 38°C ergeben. Die Versuche des Jahres 1933 auf dem Versuchsfeld der Biologischen Reichsanstalt in Berlin-Dahlem sollen hier außer Betracht gelassen werden, weil das Material für die Beantwortung der gestellten Frage nicht ausreichte und die übermäßig große Zahl von Fehlstellen im Feldanbau sowie die ungünstige Einwirkung des Dahlemer





Standortes eine Auswertung dieses Versuches nicht ratsam erscheinen ließen. Die Feldversuche wurden daher im Jahre 1934 mit einem Material von annähernd 2500 Knollen auf dem Versuchsfeld der Außenstation Mechow der Biologischen Reichsanstalt durchgeführt.

Wir wollen uns zunächst der Besprechung der Gewächshausversuche des Jahres 1933 zuwenden. Die Knollen wurden nach Untersuchung mit Hilfe der Kupferprobe in Tontöpfe, später in Mitscherlichgefäße, die mit Komposterde beschickt waren, ausgelegt. Den Boden hielten wir mäßig feucht. Der Gesundheitszustand der sich entwickelnden Kartoffelstaude wurde, bis eine sichere Beurteilung möglich war, täglich beobachtet. Nur bei stärker ausgeprägten Krankheitsbildern ist es bereits kurz nach dem Auflaufen möglich, die Kennzeichen der Krankheit zu erkennen. Bei blattrollkranken Kartoffeln z. B. wird die Rollung der Blätter meist erst in einem späteren Entwicklungsstadium sichtbar. In unserem Versuch, der in eine Zeit fiel, in der wir die Indexberechnung für die Einzelknolle noch nicht durchführten, legten wir 10 Knollen der Sorte Direktor Johanssen (Herkunft Mechow) gegen Ende Januar in Tontöpfe aus. Zur Bewertung der einzelnen, vorher mit der Kupferprobe geprüften Knollen diente das Bechhold'sche Schema. Gegen Mitte März waren die Pflanzen 'so weit entwickelt, daß eine Bewertung des Gesundheitszustandes

möglich wurde. Bei der Aufnahme des beigefügten Lichtbildes wurden die Pflanzen nicht entsprechend ihrer Bewertung bei der Bechholdschen Kupferprobe, sondern nach ihrem tatsächlichen Gesundheitszustand angeordnet. Bei dem Vergleich mit den Ergebnissen der Kupferprobe sind geringfügige Unstimmigkeiten zu erkennen, die aber weniger in einem Mangel der Versuchsmethodik beruhen dürften als in dem Fehlen einer Möglichkeit, feinere Unterschiede mit Hilfe des ursprünglichen Bewertungsschemas erfassen zu können. Eine Tendenz im Sinne der Fragestellung, ob zwischen der Größe der verfärbten Fläche und dem Gesundheitszustand der aus dieser Knolle wachsenden Kartoffelstaude ein direkter Zusammenhang besteht, war jedenfalls vorerst als gegeben anzunehmen.

In einer weiteren Versuchsreihe prüften wir nochmals einige Knollen, die wir aus einem größeren Material entnommen hatten, um einerseits ganz bestimmte Werte zu erhalten und andererseits nochmals an zwei anderen Sorten einen Anhalt dafür zu gewinnen, ob eine Versuchsanstellung mit geprüften Knollen überhaupt möglich ist. Den Ausfall dieses Versuches zeigt die nachstehende Tabelle.

Tabelle 4.

Sorte und Herkunft	Farbton nach Anwendung der Bechholdprobe	Index	Gesundheitszustand im Vegetationsversuch
Industrie, Dahlem (2) Parnassia, Dahlem (2) Industrie, Mechow Industrie, Mechow Industrie, Mechow Industrie, Mechow	Hellgrau und braun Hellbraun Hellbraun Schwarz Schwarz Schwarz Schwarz	29 124 200 336 341 411	Zwergwuchs und Rollen Rollkrank Schwaches Grundrollen Gesund Gesund Gesund

Nach dem Ausfall dieses Versuches könnte man annehmen, daß bei Kartoffelknollen, die gegen Ende März (Pflanztermin 30. März 1933) geprüft werden, Indexwerte bis 200 kranken Knollen entsprechen, wohingegen Knollen mit Indexwerten über 300 typisch für gesunde Knollen zu sein scheinen. Zwei weitere Versuchsreihen mit Knollen verschiedener Indexwerte der Sorten Industrie und Parnassia stützten diese Annahme.

Tabelle 5.

Sorte und Herkunft	Farbton nach Anwendung der Bechholdprobe	Index	Gesundheitszustand im Vegetationsversuch
Parnassia, Dahlem (2)	Hellgrau Dunkelgrau Grau Dunkelgrau Schwarz Grau Dunkelbraun Dunkelbraun	142 185 232 342 407 666 672 987	Strichelkrank Strichelkrank Strichelkrank u. Zwergwuchs Gesund Gesund Gesund Gesund Gesund Gesund

Tabelle 6.

Sorte und Herkunft	Farbton nach Anwendung der Bechholdprobe	Index	Gesundheitszustand im Vegetationsversuch
Industrie, Dahlem (2)	Glasig, unverfärbt Dunkelgrau Dunkelgrau Dunkelgrau Grau Grau—dunkelgrau Dunkelgrau—braun Braun Braun	0 55 244 253 338 430 511 595 766 1131	Kräuselkrank Zwergwuchs, Grundrollen Zwergwuchs, kräuselkrank Kräuselkrank Gesund Gesund Gesund Gesund Gesund Gesund Gesund



Knollenindex: Gesundheitszustand:

185 strichelkrank

elkrank Abb. 3. 232 Zwergwuchs und strichelkrank.

Parnassia-Dahlem (2).



Knollenindex: Gesundheitszustand:

342 gesund

142

407 gesund

666 gesund

Abb. 4. Parnassia—Mechow. Die bisher geschilderten Versuchsergebnisse sprechen zunächst dafür, daß zwischen dem durch die Kupferprobe bedingten Verfärbungsgrad der Knollenfläche und dem Gesundheitszustand der aus dieser Knolle





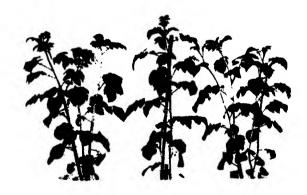


Knollenindex: ()
Gesundheitszustand: kräuselkrank

55 X Zwergwuchs, Grundrollen Abb. 5. Industrie- - Dahlem (2).

244 Zwergwuchs, kräuselkrank

wachsenden Staude eine Beziehung besteht. Zu beachten bleibt jedoch, daß bei den bisherigen Versuchen die gesunden Knollen anderer Herkunft waren als die kranken. Es ist also der Einwand nicht von der Hand zu weisen, daß die Unterschiede der Indexwerte herkunftsbedingt sind, daß



Knollenindex: Gesundheitszustand: 511 gesund 595 gesund Abb. 6. 766 gesund

Industrie-Mechow.

in den bisherigen Fällen die Gesundheitszustände zufällig den Herkünften entsprechend waren und daß dies nicht immer der Fall zu sein braucht. Um diesem Einwand zu begegnen, wurden mehrere Versuchsreihen verschiedener Sorten angesetzt, bei denen die Indexwerte der verschiedenen Herkünfte in den gleichen Bereich der Wertreihe fallen. Wenn der Indexwert nicht herkunftsbedingt, sondern vom Gesundheitszustand abhängig ist, dann müssen bei diesem Vergleich in den Gruppen ähnlicher Indexwerte jeweils alle Stauden gesund oder krank sein. Wir wollen nachstehend nur eine Sorte näher besprechen, da diese Versuchsergebnisse sich weitgehend mit denen der anderen im Versuch stehenden Sorten deckten.

Tabelle 7.
Sorte: Magdeburger Blaue.

Herkunft	Farbton nach Anwendung der Bechholdprobe	Index	Gesundheitszustand im Vegetationsversuch
Stade	Schwarz Dunkelgrau Dunkelgrau Z. T. graugrün Graugrün Schwarz	162 171 191 193 237 287 286 280 367 369 396 418 480 622 791	Gesund Kräuselkrank Gesund Gesund Mosaik und kräuselkrank Kräuselkrank Kräuselkrank Gesund Gesund Kräuselkrank Gesund Gesund Gesund Gesund Gesund Gesund

Wenn wir vorerst einmal die verschiedenen Farbtöne der einzelnen Proben unberücksichtigt lassen, so haben wir bei den höheren Indexwerten eine direkte Beziehung zum Gesundheitszustand der Kartoffelstaude, bei niedrigen Werten ist diese Beziehung aber nicht mehr zu erkennen. Macht man sich nun die Auffassung zu eigen, daß graue und grüne Farbtöne anders zu bewerten sind als braune und schwarze, so vermögen wir zwar im Einzelfall eine Korrektur vorzunehmen, ohne jedoch das Versuchsergebnis als solches wesentlich beeinflussen zu können. Würden wir, wie z.B. in unseren ersten Versuchsreihen, auch diesmal bei der Sorte Magdeburger Blaue, eine Herkunft, die uns aus Erfahrung als krank bekannt ist (Dahlem), mit einer anderen, die wir als gesund kennen (Mechow), in Vergleich setzen, so könnten wir auch hier wieder zu einer falschen Schlußfolgerung gelangen. Durch die Einschaltung zweier weiterer Herkünfte der gleichen Sorte, die nach unserer Erfahrung eine mittlere Stellung hinsichtlich ihres Gesundheitszustandes einnehmen, zeigt jede dieser Herkünfte, einzeln für sich betrachtet, ein einheitliches Bild, d. h. in einer Herkunft haben gesunde Knollen hohe und kranke Knollen niedrige Indexwerte. Ordnen wir jedoch die einzelnen Knollen in einer Zusammenstellung, bei der die Herkunft nicht berücksichtigt wird, so kommen wir zu

einem Bild, das nicht einheitlich ist. Wir finden dann gesunde und kranke Pflanzen zusammen in einer Gruppe ähnlicher Indexwerte.

In einer weiteren Versuchsreihe, der die gleiche Fragestellung zugrunde lag, verglichen wir zwei Herkünfte einer Sorte, die, wie wir wußten, in ihrem Prozentanteil gesunder und kranker Stauden keine großen Differenzen aufweisen konnten, bei denen also die Variationen der Indexwerte fast übereinstimmend sein mußten.

Tabelle 8a. Sorte: Direktor Johanssen.

Herkunft	Farbton nach Anwendung der Bechholdprobe	Index	Gesundheitszustand im Vegetationsversuch
Dahlem Aschersleben Aschersleben Dahlem Dahlem Aschersleben Aschersleben Aschersleben Dahlem Dahlem Dahlem Dahlem Aschersleben Dahlem Dahlem Dahlem Dahlem Aschersleben Dahlem Aschersleben Dahlem Aschersleben Dahlem Aschersleben	Schwarz Schwarz Schwarz Schwarz Junkelgrau Schwarz	234 246 272 280 284 291 346 376 385 385 400 462 585 614 637 800	Zwergwuchs, schwaches Kräuseln und Rollen Gesund Mosaik und kräuselkrank Zwergwuchsu.Grundrollen Schwaches Grundrollen Gesund Gesund Kräuselkrank Gesund Kräuselkrank Schwaches Grundrollen Kräuselkrank Schwaches Grundrollen Gesund Gesund Gesund Gesund Gesund

Tabelle 8b. Sorte: Magnum bonum.

· Herku	nft	ţ		 Farbton nach Anwendung der Bechholdprobe	Index	Gesundheitszustand im Vegetationsversuch
Aschersleben Aschersleben Mechow Aschersleben Mechow Mechow	•	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		 Graugrün Dunkelgrau Z. T. dunkelgrau Schwarz Schwarz Schwarz	76 226 232 302 350 463	Rollkrank Rollkrank Gesund Rollkrank Gesund Rollkrank

Diese Versuche sind nicht nur deswegen bedeutungsvoll, weil sie im großen Ganzen das Ergebnis des vorigen Versuches bestätigen, sondern auch weil sich hier zum erstenmal bei der Nachprüfung der Fall ergab, daß auch innerhalb der gleichen Herkunft nicht in allen Fällen eine bestimmte Beziehung zwischen Indexwert und Gesundheitszustand zum Ausdruck kommen muß. Wir sehen bei der Dahlemer Herkunft der Sorte Direktor Johannssen, daß gesunde Knollen niedrige Indexwerte liefern können, während die Mechower Herkunft uns bei beiden Sorten das

entgegengesetzte Ergebnis liefert. Man kann zu der Annahme neigen, daß es sich hier um nicht kontrollierbare Versuchsfehler handelt, die schon bei der Durchführung der Bechholdschen Kupferprobe unterlaufen sind. Ein derartiger Fehler wird als Einzelfall nicht zu vermeiden sein. Wir haben aber später feststellen können, daß diese Unregelmäßigkeit öfter vorkommt und auch von anderer Seite beobachtet wurde!).

Nachdem die Gewächshausversuche den Beweis erbracht hatten, daß bei Verwendung mehrerer Herkünfte einer Sorte eine direkte Beziehung zwischen der Größe der Verfärbungszone einer Kartoffelknolle, ausgedrückt durch den Indexwert, und dem Gesundheitszustand der daraus wachsenden Kartoffelstaude nicht immer gegeben ist, ja daß selbst innerhalb einer Herkunft diese Beziehung nicht immer zutreffen muß, entschlossen wir uns trotzdem, an einem größeren Material diese Fragen noch einmal zu überprüfen. Es lag uns daran, genauere Anhaltspunkte darüber zu gewinnen, mit welchen Fehlern wir bei feldmäßiger Prüfung des Gesundheitszustandes einer Sorte bzw. einer Herkunft rechnen müssen und ob bei Berücksichtigung dieser Fehlerquellen die Anwendung der Bechholdschen Kupferprobe in der Praxis zu vertreten ist. Wir wollen weiterhin nachprüfen, ob sich zwischen dem Indexwert einerseits und dem Erntegewicht der Kartoffelstaude andererseits gesicherte Beziehungen nachweisen lassen.

Die Versuche wurden, wie schon erwähnt, in kleinem Umfange im Jahre 1933 auf dem Versuchsfeld der Biologischen Reichsanstalt erstmalig durchgeführt. Dabei ergab sich als Schwierigkeit, daß infolge schlechter Beschaffenheit der geprüften Knollen, welche durch die Lagerung bis zum Aussaattermin gelitten hatten, im Feldbestand Fehlstellen in großer Zahl vorhanden waren. Weit stärker aber wurde der Versuch durch die ungünstige Auswahl des Standortes beeinflußt. Das Versuchsfeld der Biologischen Reichsanstalt in Berlin-Dahlem ist den extremen Abbaulagen zuzurechnen. Eine Diskussion der Ergebnisse der Feldversuche des Jahres 1933 wollen wir daher unterlassen. Im darauffolgenden Jahr ergab sich dann die Möglichkeit, die "Gegenprobe" auf den Feldflächen des Rittergutes Mechow in der Prignitz in einem genügend großen Umfange durchzuführen. Die Knollen wurden nicht in Mechow, sondern in Berlin-Dahlem in Mengen von 150 bis 200 Knollen täglich der Bechholdschen Kupferprobe unterworfen, weil zweckentsprechende Einrichtungen in Mechow selbst fehlen. Von jeder Knolle wurde nach Abschluß der Prüfung eine Hälfte nach Mechow gebracht. Die einzelne Herkunft wurde dort, nach ihren Indexwerten geordnet, in Reihen ausgelegt. Der Gesundheitszustand der Kartoffelstauden ist im Verlauf der Vegetationsperiode dreimal bewertet worden. Die letzte

<sup>1)</sup> Briefliche Mitteilung von Dr. Kattermann, Freising.

Bonitierung bleibt in unserer weiteren Betrachtung jedoch unberücksichtigt, weil zu dieser Zeit wegen des starken Blattlausbefalles und einer außergewöhnlich starken Einwirkung der Trockenperiode des Sommers 1934 die Bewertung des Gesundheitszustandes zu unsicher war. Nach Abschluß der Vegetationsperiode wurde geerntet und bei den meisten Herkünften die Knollenzahl der Einzelstaude sowie das Knollengewicht ermittelt, nachdem die Ernte auf dem Felde abgetrocknet war. Da die Knollen auf dem Felde nicht besonders gesäubert werden konnten, haben wir bei unseren Ertragszahlen mit einem gewissen Anteil von Schmutzprozenten zu rechnen, der jedoch so unerheblich ist, daß wir ihn in unserem Falle vernachlässigen können. Im Versuch standen in Mechow folgende Sorten und Herkünfte:

Tabelle 9.

. Sorte		Herkunft	Knollenzahl
Odenwälder Blaue	.	Aschersleben (21)	99
Odenwälder Blaue		Stade (2)	91
Industrie	.	Mechow (2)	94
Industrie		Stade (2)	50
Industrie		Aschersleben (2)	96
Industrie	.	Schlawe	104
Parnassia	. 1	Mechow (2)	95
Parnassia		Stade (2)	97
Parnassia	.	Lobeofsund — Dahlem	99
Magdeburger Blaue .	.	Stade (2)	92
Magdeburger Blaue	.	Aschersleben (2)	99
Magdeburger Blaue Magdeburger Blaue .	.	Aschersleben - Dahlem	99
Magdeburger Blaue .	.	Mechow (2)	100
Magnum bonum	.	Mechow (2)	100
Magnum bonum Magnum bonum	.	Aschersleben (2)	92
Magnum bonum		Stade (2)	96
Magnum bonum	.	Lobeofsund (2)	48
Wohltmann	.	Dahlem	96
Direktor Johanssen .	.	Aschersleben (2)	99
Direktor Johanssen .	.	Mechow (2)	51
Direktor Johanssen .	.	Stade (2)	101
Erstling	.	Groß Ziethen	103
Erstling	.	Sydow	104
Erstling		Ribbekshorst	102
Erstling Erstling	.	Winsener Geest	102
Ackersegen	- 6	Dahlem	50

<sup>1)</sup> Der Zusatz (2) besagt, daß die Kartoffel die beiden letzten Jahre an dem angegebenen Herkunftsort angebaut wurde.

Bei dem Auspflanzen der Knollenhälften in Mechow ist darauf geachtet worden, daß die Knollenhälften mit der Schnittfläche nach unten in den Boden kamen.

Bei der Bewertung des Gesundheitszustandes, die zum erstenmal etwa 14 Tage vor dem Blühen der mittelfrühen Sorten erfolgte (die nächste Bewertung wurde etwa 14 Tage später durchgeführt), wurde nicht allein zwischen "gesund" und "krank" unterschieden, sondern auch Art und Stärke der Krankheitssymptome vermerkt. Für die endgültige Beurteilung des Gesundheitszustandes ist die zweite Bewertung wichtiger, weil in dieser Zeit fast alle Stauden soweit entwickelt waren, daß diese Bewertung als sicherer Maßstab angesehen werden kann. Das erste Mal mußten vielfach Kartoffelpflanzen bewertet werden, bei denen sich nicht eindeutig feststellen ließ, ob sie noch als gesund anzusehen waren, ob verdächtige Erscheinungen, wie vereinzeltes schwaches Rollen der Blätter. leichtes Aufhellen der Blattfarbe, leicht angedeutete Mosaikerscheinungen, schon Symptome eines beginnenden akuten Krankheitszustandes darstellten. In diesen Fällen konnte erst die zweite Bewertung ein eindeutiges Bild ergeben und die Richtigkeit der ersten Feststellung nach der einen oder anderen Richtung hin bestätigen. Bei der Auswertung der gewonnenen Unterlagen teilten wir die Pflanzen in drei Bewertungsgruppen, die wir folgendermaßen aufstellten:

	Zustand	l bei der
Gruppe	1. Bewertung	2. Bewertung
I II III	Krank Gesund Gesund	Krank Krank Gesund

Wir kamen so zu folgenden Ergebnissen:

Tabelle 10.

	1	Bewertur	gsgruppe	
Sorte und Herkunft	I	II	III	Fehlstellen
Odenwälder Blaue				
Aschersleben (2)	11	24	56	8
Aschersleben (2) Stade (2)	19	22	32	18
Industrie				
Mechow (2)	24	21	33	16
Mechow (2)	6	33	7	4
Ascherslehen (2)	65	15	4	12
Aschersleben (2) Schlawe	2	36	62	14
Parnassia				
Mechow (2)	6	19	68	2
Stude (9)	I _	16	79	2
Stade (2)	77	1	1 19	2
Lodeoisuna-Daniem	1 77	8	1 11	13

		Bewertu	ngsgruppe	
Sorte und Herkunft	1	11	III	Fehlstellen
Magdeburger Blaue				
Stade (2)	. 7	22	60	3
Stade (2)	. 68	8	13	10
Aschersleben-Dahlem	73	12	4	10
Mechow (2)	. 15	9	18	58
Magnum bonum				
Mechow (2)	45	29	13	13
Aschersleben (2)	. 1 68	7	ï	16
Stade (2)	. 11	23	30	32
Stade (2)	. 17	20	3	8
Wohltmann		1		
Dahlem	. 73	10	1	12
Direktor Johanssen	1			
Aschersleben (2)	. 81	9	6	3
Mechow (2)	. 13	27	5	6
Stade (2)	.   2	76	19	4
Erstling				
Groß-Ziethen	. 33	27	16	27
Sydow	. 3	28	32	41
Ribbekshorst	2	43	38	19
Winsener Geest	28	33	31	10
Ackersegen				
Dahlem	19	4	1	26

Bei der Auswertung unserer Versuchsergebnisse gingen wir in der Weise vor, daß wir die "Gesundheitsgruppen" als Klassen zu den verschiedenen Indexwerten in Beziehung setzten, die wir ebenfalls in Klassen einordneten, wobei wir Abstufungen in den Indexwerten von je 50 wählten. Wir haben bei dieser Gegenüberstellung vorerst ganz unberücksichtigt gelassen, mit welchen absoluten Indexwerten die einzelne Herkunft bzw. die einzelne Sorte ausgezeichnet waren, sondern nur geprüft, ob sich gesicherte Beziehungen zwischen Gesundheitszustand der Kartoffelstaude und steigenden Indexwerten ergeben. Unsere suchungen wurden für jede im Versuch stehende Herkunft jeder Sorte korrelationsstatistisch ausgewertet. Wir wollen in diesem Zusammenhang nur zwei dieser Aufstellungen wiedergeben und bringen von den anderen Berechnungen nur die Aufstellung der Korrelationskoeffizienten, die ja allein genügen, um einen Überblick über die tatsächlichen Verhältnisse zu geben.

Bevor wir jedoch die Zusammenhänge bei den einzelnen Sorten bzw. Herkünften näher ausführen, haben wir uns die Frage gestellt, ob bei unserem gesamten Versuchsmaterial, ohne Berücksichtigung der Sorten und Herkünfte, eine Korrelation besteht.

Tabelle 11.

	Gesundheitsklassen				
Indexklassen	1	II	III	Summe	
0— 50	42	20	12	74	
50— 100	18	8	18	44	
100— 150	77	51	44	172	
150 — 200	179	95	92	366	
200 - 250	176	131	131	438	
250— 300	150	128	115	393	
300 - 350	71	77	89	237	
350- 400	36	39	68	143	
400 450	13	15	34	59	
450— 500	3	5	11	19	
500 550	1	_	8	9	
550— 600	1	_	8	9	
600— 650	<del>-</del>	1	3	1	
650 — 700	3	_	1	1 1	
700 — 750	_	_	5	5	
750 - 800		1	_	1	
800 — 850		_	1	1	
850— 900	_		. —	_	
900 — 950	_ _ _ _	<u> </u>			
950-1000	_		2	3	
1000 — 1050	_	_			
1050—1100	_	_	I —	_	
1100-1150	_		- - -	_	
1150—1200	. —		l .	i	
1200—1250	n -	_	1	1	
1250 1300					
Summe	770	568	643	1981	

 $r = +0.253 \pm 0.021$ 

Wir können also als Ergebnis unserer Untersuchungen vorwegnehmen, daß eine schwache Korrelation im Sinne der von Bechhold und Erbe geäußerten Vermutung besteht, die angenommen haben, daß die Kupferprobe sich zur Feststellung des Gesundheitszustandes von Kartoffelknollen verwenden ließe. Die Bechholdsche Annahme kann also, hiernach als ganzes betrachtet, bestätigt werden. Die Kupferprobe ist unter gewissen Voraussetzungen eine Handhabe zum Erkennen des Abbaugrades an den Pflanzknollen.

Wenden wir uns jetzt wieder unseren Versuchssorten zu. Bei der relativ geringen Anzahl von Herkünften einer Sorte ist es naturgemäß schwierig, das Verhalten der Sorten bei Anwendung der Bechholdschen Kupferprobe eindeutig festzulegen. Wir müssen daher die Frage offenlassen, ob sich bei Verwendung einer größeren Anzahl von Herkünften das Bild etwas verschieben kann. Die nachstehende Übersicht gibt die Korrelationskoeffizienten der Versuchssorten, wobei alle geprüften Knollen einer Sorte, ohne Berücksichtigung der Herkunft, eingeordnet wurden.

Die Sorten Wohltmann und Ackersegen, bei denen nur eine Herkunft geprüft werden konnte, sind hierbei nicht berücksichtigt worden.

Tabelle 12.

Sorte		r
Odenwälder Blaue Industrie Parnassia Magdeburger Blaue Magnum bonum . Direktor Johanssen Erstling	 	 $\begin{array}{c} +0,162\pm0,078\\ +0,279\pm0,052\\ +0,049\pm0,059\\ +0,197\pm0,055\\ +0,397\pm0,051\\ +0,493\pm0,049\\ +0,019\pm0,057 \end{array}$

Wenn wir zur Beurteilung nicht das gesamte geprüfte Knollenmaterial heranziehen, sondern nur das Verhalten der einzelnen Sorte untersuchen, so können wir feststellen, daß nur einzelne Sorten sich in den Rahmen der Gesamtkorrelation einfügen. Bei den Sorten Odenwälder Blaue, Parnassia und Erstling ist zwar eine Tendenz im Sinne der Fragestellung zu erkennen, jedoch ist die Korrelation nicht gesichert. Wir können also unsere bisherigen Ausführungen dahingehend ergänzen, daß die Kupferprobe zwar unter gewissen Voraussetzungen eine Handhabe zum Erkennen des Abbaugrades an den Pflanzknollen bietet, aber nicht für alle Sorten in gleicher Weise anwendbar ist.

Bevor wir jetzt anschließend uns mit der Frage der Bedeutung der Herkunft einer Sorte für die Bechholdsche Kupferprobe näher befassen, wollen wir noch drei Versuchsprotokolle einschalten, um so dem Leser Gelegenheit zu bieten, sich selbst ein Urteil zu bilden.

Die nachstehend aufgeführten Versuchsprotokolle und die dazugehörigen Korrelationstabellen stellen eine Auswahl der Fälle dar, in denen eine gesicherte positive Korrelation festzustellen war. Bevor wir uns der Diskussion des Gesamtergebnisses unserer Untersuchungen zuwenden, wollen wir erst noch die Korrelationskoeffizienten der anderen Herkünfte anführen (Tabelle 15).

Aus der Übersicht der Korrelationskoeffizienten geht hervor, daß bei 17 Herkünften, also rund <sup>3</sup>/<sub>3</sub> aller Herkünfte, positive Korrelationen bestehen, von denen die Hälfte gesichert ist. Bei den verbleibenden neun Herkünften ist die negative Korrelation in keinem Fall gesichert.

Wenn wir uns die Frage vorlegen, inwieweit ein herkunftsbedingter Einfluß bei der Durchführung der Bechholdschen Kupferprobe anzunehmen ist, so können wir zur Beantwortung dieser Frage nur die Herkünfte Stade, Mechow und Aschersleben heranziehen, da nur diese Herkünfte öfter geprüft wurden.

Tabelle 13. Odenwälder Blaue — Aschersleben (2).

	Odenwaluer ii	Mane — Aschersionen		
Index	1. Feldbewertung	2. Feldbewertung	Knollenzahl	Knollen- gewicht
				g
	1			
0	Klein, kräuselt	Gesund	5	173
0	Klein, gesund?	Hesund	9	227
.0	Gesund	Rollt	11	213
34	Rollt	Rollt stark	12	215
35	Gesund?	Rollt	9	238
48	Klein, starr	Rollt	8	187
53	Gesund	Gesund	19	269
59	Gesund?	Rollt stark	2	101
66	Fehlstelle	D - 11441		
75 	Kräuselt	Rollt stark	1	22
77	Fehlstelle	C 1	1	
78	Klein, kräuselt	Gesund	16	230
80	Klein, gesund	Gesund	.9	186
86	Gesund	Rollt	17	470
90	Gesund	Rollt stark	12	258
93	Rollt?	Rollt stark	17	279
93	Rollt ?	Rollt stark	11	228
95	Gesund	Gesund	13	108
99	Gesund	Gesund	13	435
100	1	Gesund	6	193
103	Gesund?	Rollt	2	100
106	7 7 11 11 11	Gesund	8	284
107	Kräuselt?	Rollt	6	150
108	Gesund	Rollt	18	247
120	, , , , , ,	Gesund	14	620
120	Gesund?	Rollt	1 .1	114
123	Gesund	Rollt	15	615
121	Fehlstelle	, ,	1 1	
124	Klein, gesund	Gesund	11	257
125	Gesund?	Gesund	6	390
125	Gesund	Gesund	9	220
125	Gesund	Rollt	17	475
126	Krauselt?	Rollt	16	1080
131	Gesund	Gesund	2	100
135	Gesund	Rollt	12	199
137	Grundrollen	Rollt stark	14	281
138	Fehlstelle			
139	Kräuselt	Rollt	21	655
140	Gesund	Gesund	5	206
141	?	Gesund	30	1300
141	Fehlstelle	<i>a</i> ,		
14 i	Gesund	Gesund	3	103
141	Gesund	Gesund	3	180
142	Gesund	Gesund	2	206
142	Gesund	Gesund	17	1105
142	Fehlstelle	73.114	1 1	
142	Gesund	Rollt stark	6	217
143	Gesund	Rollt	13	488
143	Gesund	Rollt	7	426
148	Gesund	Rollt	12	432
148	Kräuselt?	Rollt	12	221
149	Gesund	Rollt	27	940
150	Kräuselt?	Rollt	16	204
150	Fehlstelle	70.11	1 1	
151	Gesund	Rollt	10	226
151	Gesund	Rollt	1 11 1	592

Index	1. Feldbewertung	2. Feldbewertung	Knollenzahl	Knollen- gewicht
151	Gesund	Rollt	9	505
152	Gesund	Gesund	15	248
152	Gesund	Rollt	20	613
153	Fehlstelle		1	
161	2	Gesund	19	239
162	Gesund	Gesund	15	350
165	Gesund	Gesund	1 1	50
168	Gesund	Gesund	5	225
168	Gesund?	Gesund	12	268
170	Gesund	Gesund	21	770
171	Kräuselt?	Gesund	8	271
175	Kräuselt?	Gesund	6	690
175	Gesund	Gesund	7	358
176	Gesund	Gesund	12	294
179	Gesund	Gesund	] 14 ]	262
180	Gesund	Gesund	12	439
182	Gesund	Gesund	17	445
182	-Gesund	Gesund	30	1061
183	Schwaches Grundrollen	Gesund	17	416
186	Gesund	Gesund	11	426
187	Gesund	Gesund	30	395
189	Gesund	Gesund	22	590
194	Gesund	Gesund	9	220
195	Gesund	Gesund	11	509
196	Gesund	Rollt	17	727
200	Grundrollen?	Rollt	18	682
206	Gesund	Gesund	10	429
206	Mosaikkrank?	Gesund	11	662
206	Gesund	Gesund	4	203
209	Gesund	Gesund	26	803
211	Gesund	Gesund	15	408
212	Gesund	Gesund	5	437
217	Gesund	Gesund	21	669
217	Gesund	Gesund	1 8 1	234
218	Gesund	Gesund	6	229
229	Gesund	(tesund	38	1645
231	Gesund	Gesund	35	439
235	Gesund	Gesund	7	232
236	Gesund	Gesund	15	621
257	Gesund	Gesund	12	. 245
262	Gesund	Rollt	21	671
266	Grundrollen?	Rollt	6	457
307	Gesund	Rollt	1 1	198

Indexklassen	Gesundheitsklassen			
Indexklassen	I	II	III	Summe
0— 50 50—100 100—150 150—200 200—250 250—300 300—350	2 3 6 1 - 1	2 3 11 5 - 1	6 12 21 13 1	6 12 29 27 13 3
350-400	13	23	55	91
	r = +0	3 ± 0,095.		,

Tabelle 14. Odenwälder Blaue — Stade (2).

Index	1. Feldbewertung	2. Feldbewertung	Knollenzahl	Knollen- gewicht
0	Vlain accumd v	Gesund	7	362
42	Klein, gesund? Fehlstelle	Gesund		902
53	Klein, gesund?	Gesund	6	227
102	Gesund	Rollt	$\ddot{8}$	450
102	Gesund	Rollt	20	1070
116	Grundrollen	Rollt	17	532
119	Gesund	Rollt	16	457
129	Grundrollen	Rollt	17	453
131	Gesund	Gesund	22	1000
138	Rollt	Rollt	10	420
1.41	Rollt	Rollt stark	27	774
142 145	Gesund? Gesund	Rollt	12	222
145	Rollt	Gesund Rollt	9 5	190 244
151	Fehlstelle	Rollt stark	"	190
153	Fehlstelle	Rollt stark		
160	Fehlstelle	TOTAL SOUTH		
160	Fehlstelle	Į.		
162	Rollt	Rollt stark	6	176
165	Rollt	Rollt stark	12	287
166	Fehlstelle			
170	Gesund	Rollt	39	979
171	Fehlstelle	1		
172	Gesund	Rollt	5	233
172 173	Fehlstelle Gesund?	Garran 4		1
176	Rollt	Gesund Rollt stark	5 9	172 472
184	Fehlstelle	Kont stark	9	+12
185	Gesund	Rollt	1	43
189	Gesund	Rollt stark	9	447
193	Gesund	Gesund	26	1039
197	Gesund	Gesund	6	216
200	Fehlstelle			
200	Gesund	Rollt	9	291
206	Gesund	Rollt	6	298
206	Fehlstelle		4.0	4
206 206	Klein, gesund	Gesund	16	483
206	Gesund Rollt	Rollt Rollt	10	485
206	Gesund	Rollt	2 8	62 277
212	Gesund	Gesund	18	542
213	Fehlstelle	Count	1 "	1772
213	Rollt?	Rollt	12	672
216	Gesund	Gesund	15	484
218	Gesund	Gesund	8	411
218	Gesund	Rollt	18	609
219	Gesund	Gesund	15	466
221 222	Gesund	Rollt	4	465
555	Gesund Gesund	Gesund	13	342
222	Rollt?	Rollt stark Rollt	21	920
224	Gesund	Rollt	10	208 239
224	Rollt	Rollt stark	17	698
225	Rollt	Rollt stark	21	428
233	Gesund	Rollt	9	226
234	Gesund	Rollt	11	430

Index	1. Feldbewertung	2. Feldbewertung	Knollenzahl	Knollen gewicht g
234	Rollt?	Rollt	6	628
236	Gesund?	Rollt	1 6	206
237	Gesund	Rollt	30	683
240	Gesund	Gesund	23	883
241	Gesund	Rollt	19	525
244	Klein, gesund	Gesund		193
247	Gesund	Rollt	17	527
247	Fehlstelle			.,_,
251	Gesund	Gesund	17	995
251	Gesund	Rollt	17	457
256	Gesund	Gesund	8	653
258	Gesund	Gesund	2	34
261	Gesund	Gesund	13	667
262	Gesund	Gesund	20	701
262	Rollt	Rollt	11 1	558
263	Fehlstelle	1	1 1	
264	Fehlstelle	(	1	
270	Gesund	Gesund	21	404
274	(4rundrollen	Rollt	2	90
276	Fehlstelle		1	
284	Gesund	Rollt	15	433
284	Gesund	Gesund	14	695
285	Gesund	Gesund	17	480
288	Gesund	Gesund	16	703
294	Gesund	Gesund	13	420
295	Rollt	Rollt	22	720
298	Gesund	Gesund	14	609
303	Gesund	Gesund	1 8	271
305	Fehlstelle			
312	Gesund	Gesund	10	497
328	Rollt	Gesund	13	980
335	Rollt	Rollt	19	715
346	Gesund	Gesund	1.4	687
366	Fehlstelle	Dominion 1 LA	100	
422	Gesund	Gesund	1 11 1	180

	Gesundheitsklassen			
Indexklassen	I	11	111	Summe
0— 50 50—100 100—150 150—200 200—250 250—300 300—350 350—400 400—450	5 3 6 3 1	- 4 5 3 2 - -	1 1 2 3 8 11 3	1 1 11 11 27 16 5 -
450—500	18	24	31	73

### M. Klinkowski:

Tabelle 15.

Sorte und Herkunft	r			
Odenwälder Blaue Aschersleben (2) Stade (2)	$+0.3 \pm 0.095 +0.466 \pm 0.073$			
Industrie Mechow (2) Stade (2) Aschersleben (2) Schlawe	$\begin{array}{c} + 0.228 \pm 0.107 \\ + 0.361 \pm 0.112 \\ - 0.17 \pm 0.106 \\ + 0.435 \pm 0.081 \end{array}$			
Parnassia Mechow (2) Stade (2) Lobeofsund-Dahlem	$+0.192 \pm 0.1$ $+0.079 \pm 0.102$ $+0.338 \pm 0.09$			
Magdeburger Blaue Stade (2) Aschersleben (2) Aschersleben-Dahlem . Mechow (2)	$\begin{array}{c} -0.1 & \pm 0.105 \\ -0.031 & \pm 0.106 \\ -0.037 & \pm 0.106 \\ -0.096 & \pm 0.154 \end{array}$			
Magnum bonum Mechow (2) Aschersleben (2) Stade (2) Lobeofsund (2)	$\begin{array}{c} + 0,792 \pm 0,04 \\ - 0,098 \pm 0,114 \\ + 0,63 \pm 0,075 \\ + 0,262 \pm 0,117 \end{array}$			
Wohltmann Dahlem	$-0,058 \pm 0,109$			
Direktor Johanssen Aschersleben (2) Mechow (2) Stade (2)	$\begin{array}{l} +\ 0.084 \pm 0.101 \\ +\ 0.263 \pm 0.139 \\ +\ 0.999 \pm 0.01 \end{array}$			
Erstling Groß Ziethen Sydow Ribbekshorst Winsener Geest	$\begin{array}{c} -0.183 \pm 0.111 \\ +0.056 \pm 0.125 \\ 0.303 \pm 0.1 \\ 0.071 \pm 0.104 \end{array}$			
Ackersegen Dahlem	$-0,188 \pm 0,197$			

Tabelle 16.

		Korrelation		
Herkunft	po	positiv		
	gesichert	nicht gesichert	nicht gesichert	
Stade	4 1 1	   3 	1 1 3	

Zur Frage nach dem Verhalten der Herkünfte ohne Berücksichtigung der Sorte können wir nur eine Antwort geben, die auf einer Erfahrung mit relativ wenigen Herkünften beruht. Das Verhalten ist in keinem Fall völlig einheitlich. Ob die aus der Tabelle ersichtliche Tendenz für das Verhalten der einzelnen Herkunft tatsächlich zu Recht besteht, kann erst eine spezielle Untersuchung an einem umfangreicheren Material eindeutig festlegen.

Bei unseren bisherigen Ausführungen haben wir die Frage zu klären versucht, ob eine Beziehung zwischen dem Gesundheitszustand der Kartoffelstaude und dem Indexwert der Bechholdschen Kupferprobe besteht; der Art des Krankheitssymptomes selbst wurde jedoch bisher keine Beachtung geschenkt. Da mit der Möglichkeit zu rechnen war, daß die einzelnen Krankheitserscheinungen nicht in gleicher Weise das Ergebnis der Bechholdschen Kupferprobe beeinflussen, so wurde jede im Versuch stehende Herkunft auch nach dieser Richtung hin näher untersucht. Zur Beurteilung standen folgende Krankheitserscheinungen: Blattrollen, Blattkräuseln und Strichelkrankheit, wobei jeweils zwischen geringem und starkem Krankheitsbefall unterschieden wurde. Wir wollen hier in diesem Zusammenhang von der Wiedergabe der Einzelergebnisse absehen und nur das Gesamtergebnis zur Diskussion stellen. Erscheinungen mosaikartigen Charakters sind nicht in den Kreis unserer Betrachtungen einbezogen worden, da die geringe Variantenzahl nicht zur Beantwortung unserer Frage ausreichend erscheint.

Tabelle 17.

Krankheitsbefall	Varianten- zahl	r
Strichelkrankheit	122 1166 1187	$+0.139 \pm 0.073$ $+0.237 \pm 0.028$ $+0.259 \pm 0.027$

Die Tabelle zeigt eindeutig ein gleichsinniges Verhalten, unabhängig von dem jeweiligen Krankheitssymptom, so daß keinerlei Bedenken bestehen, den Gesundheitszustand schlechthin in Beziehung zu setzen zum Ergebnis der Bechholdschen Kupferprobe.

In dem Bestreben, die bisher gewonnenen Erkenntnisse für eine weitere praktische Anwendung der Bechholdschen Kupferprobe zu verwerten, wählten wir einen anderen Weg für die Auswertung unseres Versuchsmaterials. Während wir bisher die Frage einer direkten Beziehung zwischen Indexwert der Bechholdschen Kupferprobe und dem Gesundheitszustand der daraus wachsenden Kartoffelstaude zu klären versucht hatten, hatten wir uns jetzt die Frage vorgelegt, inwieweit die Verteilung der Indexwerte allein eine Begutachtung verschiedener Herkünfte einer Sorte ermöglicht. Wäre dieser Weg gangbar, so würdé es

Erstling Groß Ziethen Sydow Ribbekshorst Winsener Geest	Direktor Johanssen Aschersleben (2) Mechow (2) Stade (2)	Magnum bonum Mechow (2) Aschersleben (2) State (2) Lobeofsund (2)	Magdeburger Blaue Stade (2) Aschersleben (2) Aschersleben-Dahlem Mechow (2)	Parnassia Mechow (2) Stade (2) Lobeofsund-Dahlem	Industrie Mechow (2) Stade (2) Aschersleben (2) Schlawe	Odenwälder Blaue Aschersleben (2) Stade (2)	Sorte und Herkunft
-11+		14,5 - - 27,5	ي - ا ه آه –	သုတ္သင္၊ ၁၈ဝ၈	-11=	رد اد اد	bis 100
1 2 5 7	37,5 11 12,5	51 25 55 51 25 55 51 25 55	E # E E	±17,55	18 18	61,ō	bis 200
45 12 14 14 14 15	35 31 35 35 36 37	17,5 61 62 62 63	35 ± 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55	# 35 50 50 50	35,55	17,5 59	bis 300 Proze
# 00 0 # # 00 0 #	31 31 36	,;;	8 a 8 8 8	c. + 57	## 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15 1	-1-	his 300 Prozentuale
ت <sub>ا</sub> عر	<del>,</del> <del>, , , , , , , , , , , , , , , , , ,</del>	1111	<u> </u>	K   3t	11 1 15,5	1,5	bis 500 refeilung bis 600 auf die
1111	к	1111	12 - 12	lieie			bis 600 m
	111		12   - #	111	- 1 10 -	1 1	bis 700 #.
1!11	10		-	-	12		
1111	-11		1   1		1111		bis 800 Indexklassen bis 900 klassen bis 1000 en
1111		1.1	11(1		1111		bis 1000 8
		1:11		1 1	_   ie		bis 1100
		1111	1:11			11	bis 1200
1111	111		1111	111	-		bis 1300
301 307 301 324 	368,5 329 474	195 267 711'9 787	875 889 889 889 889 889 889 889 889 889 88	245,5 245,5 263,5	101 178 282,5 289	199,ŏ 277	Wert- zahl
<b>–</b> ω ιε <b>4</b>	<b>– κ</b> ω	<b>+ − ω κ</b>	K + & -	<b>κα</b> −	<b>- ∞ 1</b> € <b>-</b>	нĸ	Rangfolge nach der Bechhold- probe
© 10 <del>- +</del> .	— K &	K <b>-</b> + ₩	1C + & -	ಜ – ಸ	-+ & K	к <b>-</b>	Rang Feldb Mechow
fehlt fehlt fehlt fehlt	& 5,5,	fehlt	fehlt fehlt fehlt fehlt	c: <b>-</b> K	-+&6	⊢ ι <b>c</b>	Rangfolge im Feldbestand Mechow Dahlem

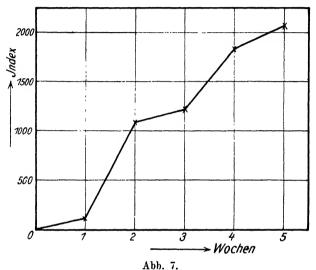
genügen, wenn wir eine bekannte gesunde Herkunft der betreffenden Sorte als Vergleichsmaßstab für die jeweilige Untersuchung wählen würden. Die Verschiebung der Indexwerte, d. h. ihre Verteilung auf andere Klassen würde uns dann ein Urteil über den Gesundheitszustand ermöglichen. Wir gingen bei der Auswertung unserer Unterlagen in der Weise vor, daß wir die Indexwerte in Klassen zu je 100 einteilten, wobei wir in unsere Tabelle den prozentualen Anteil eintrugen. Wir multiplizierten dann die Variantenzahl der betreffenden Klasse mit dem Klassenwert und ermittelten aus der Summe dieser Produkte eine Wertzahl, die wir als zahlenmäßigen Ausdruck für die Verteilung der Indexwerte der betreffenden Herkunft in unsere Tabelle einsetzten. Je größer diese Zahl war, also je mehr Varianten in höheren Indexklassen vorhanden waren. umso besser mußte auch der Gesundheitszustand sein. Auf diesem Wege kamen wir zu einer Rangordnung innerhalb verschiedener Herkünfte der gleichen Sorte. Diese Rangordnung verglichen wir mit dem Gesundheitszustand der betreffenden Herkünfte im Feldanbau in Mechow und in Dahlem. Die Angaben für Dahlem verdanke ich den Herren Dr. Wartenberg und Dr. Hev, denen ich an dieser Stelle für die Überlassung des Zahlenmaterials meinen Dank abstatten möchte. Das Resultat dieser Auswertung deckt sich weitgehend mit den bisher gewonnenen Erfahrungen. Bei einzelnen Sorten ist eine völlige Übereinstimmung zwischen dem Ergebnis der Bechholdschen Kupferprobe und den Feststellungen in Dahlem und Mechow zu beobachten, während andere Sorten geringe, in vereinzelten Fällen aber auch stärkere Differenzen zu der Voraussage auf Grund der Kupferprobe erkennen lassen. Trotzdem dürfte sich hier vielleicht ein Weg eröffnen, die Bechholdsche Kupferprobe wenigstens für einzelne Sorten einer praktisch möglichen Verwertung zuzuführen. Es wäre erwünscht, wenn diese Fragen von anderen Stellen an einem größeren Material überprüft werden könnten<sup>1</sup>).

# 4. Die Anwendungsmöglichkeit der Bechholdschen Kupferprobe bei tiefen Temperaturen.

In einigen weiteren Versuchsreihen änderten wir die Versuchsmethodik in einzelnen Punkten ab. Wir brachten die Knollen nicht, wie bisher üblich, in einen Thermostaten mit einer Temperatur von  $38^{\circ}$  C, sondern ließen sie längere Zeit mit dem Kupferblech bei tiefen Temperaturen lagern. Wir hofften, auf diese Art etwaige ungünstige Einflüsse höherer Temperaturen auszuschließen. Für unsere Versuche stand ein Kühlkeller zur Verfügung, in dem eine durchschnittliche Temperatur von  $\pm$  1,7° C mit Schwankungen von  $\pm$  1° C herrschte. Die Knollen wurden in Leinenbeutel verpackt dort aufbewahrt. Wir führten einen Versuch mit

<sup>1)</sup> Bei Drucklegung der Arbeit wurde mir bekannt, daß die Russen die Bechholdsche Kupferprobe bereits an mehr als 400 Sorten einer Nachprüfung unterziehen (5).

verschieden langer Einlagerungsdauer durch, um Anhaltspunkte dafür zu gewinnen, wie lange die Knollen bei dieser Temperatur lagern müssen, damit die Verfärbung genügend weit fortgeschritten ist. In wöchentlichen Abständen entnahmen wir je 15 Knollen (Versuchssorte: Direktor Johanssen — Mechow), deren Indexwerte sofort nach dem Aufschneiden der Knollen ermittelt wurden. Der Versuch wurde nach 5 Wochen abgeschlossen. Der Ausfall dieses Versuches ist aus der nachstehenden graphischen Darstellung ersichtlich.



Verlauf der Verfärbung bei tiefen Temperaturen.

Da bei dreiwöchentlicher Einlagerung bei tiefen Temperaturen häufig bereits Knollen auftraten, bei denen die Verfärbung sich fast über die ganze Schnittfläche erstreckte, so entschlossen wir uns in unseren



Abb. 8.
Direktor Johanssen—Mechow.

3 Wochen bei tiefer Temperatur gelagert.

weiteren Versuchsreihen, die Knollen nur noch 12 Tage bei tiefen Temperaturen einzulagern. Wenn die Verfärbung zu weit fortgeschritten ist, so besteht die Gefahr, daß die aus diesen Knollen wachsenden Kartoffelstauden eine starke Beeinträchtigung ihrer Keimkraft erfahren. Wir

prüften jetzt zwei Herkünfte einer Sorte mit dieser abgeänderten Methode und pflanzten die Knollen dann in Mitscherlichgefäße im Gewächshaus aus. Das Verfärbungsbild der geprüften Kartoffelknollen ist aus den Abbildungen 9 und 10 zu erkennen.

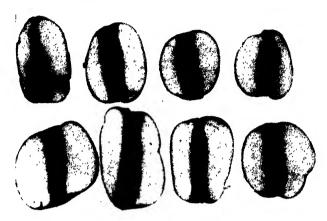


Abb. 9.

Magnum bonum—Mechow.

12 Tage bei tiefer Temperatur gelagert.

Der Ausfall des Versuches zeigt, daß mit Hilfe dieser abgeänderten Methodik sich keine Beziehungen im Sinne der eigentlichen Fragestellung

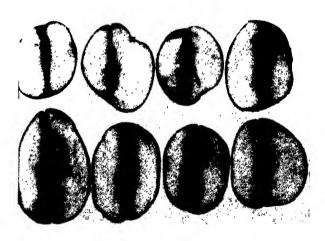


Abb. 10.

Magnum bonum—Aschersleben.

12 Tage bei tiefer Temperatur gelagert.

nachweisen lassen. Zwischen dem Indexwert dieser, bei tiefen Temperaturen geprüften Knollen, und dem Gesundheitszustand der daraus erwachsenden Kartoffelstaude, besteht keine klar erkennbare Beziehung.

Tabelle 19.

Farbton nach Anwendung der Kupferprobe	Index	Gesundheits- zustand
Magnum bo	onum — Aschers	sleben
Unverfärbt	1 0	Gesund
Glasig-weiß	fast ()	Gesund
Glasig	fast ()	Grundrollen
Glasig	fast ()	Schwach Mosaik
Hellgrau-grau	162	Grundrollen
Magnum	bonum — Mech	ow
Unverfärbt	0	Schwach Mosaik
Schwarz	264	Gesund
Hellgrau-grau	370	Gesund
Hellgrau, dunkelbraun	400	Blattrollen
Dunkelbraun	531	Zwergwuchs
Dunkelbraun	581	Gesund
Graubraun	625	Starrtracht

Weitere Versuche, die in dieser Richtung angestellt wurden, brachten kein anderes Ergebnis.

In späteren Versuchen verwendeten wir Knollen, die längere Zeit vor Versuchsbeginn in den Kühlkeller gebracht worden waren. Wir brachten diese Knollen dann, nachdem wir das Kupferblech durch die Knolle gesteckt hatten, in ein Gefäß, das von einem Eiswassergemisch umgeben war. Wir hatten so den Vorteil, bei gleichbleibender Temperatur zu arbeiten, und brauchten eine Temperaturschwankung nicht in Rechnung zu stellen.

Tabelle 20.
Fünf Tage in einem Gefäß, umgeben von einem Eiswassergemisch, weitere 24 Stunden bei Zimmertemperatur.

Direktor Johanss	sen — Dahlem	Direktor Johansse	en — Mechow
Bewertung	Index	Bewertung	Index
0 0 0 + - ++	0 0 0 267	 	321 505 682 638

Später legten wir die Knollen bei der Prüfung direkt in das Eiswassergemisch. Die Knollen wurden dann nach dem Herausnehmen sofort aufgeschnitten. Unmittelbar nach dem Aufschneiden waren die Knollen unverfärbt und zeigten dann erst nach längerer Lagerung an der Luft deutliche Spuren einer Verfärbung.

Industrie-Dahlem		Industrie-	Industrie-Mechow		
Bewertung Index		Bewertung	Index		
+++	800 836 890 940 1039		1210 1281 1315 1550 1562		

Tabelle 21. 23 Tage in einem Eiswassergemisch.

Beide Tabellen stellen nur eine Auswahl aus vielen Versuchsreihen dar. In allen Fällen zeigte aber die anschließende "Gegenprobe" im Gewächshaus keine Anhaltspunkte, daß eine derartige Abänderung der Versuchsmethodik Erfolg verspricht.

## 5. Versuche mit Holzstäbchen anstelle des Kupferbleches.

Da bei der Durchführung der Kupferprobe Kupfer in Lösung geht und im geschwärzten Gewebe nachzuweisen ist, so war mit der Möglichkeit zu rechnen, daß das Kupfer den Gesundheitszustand der aus dieser Knolle wachsenden Kartoffelstaude beeinflußt. Die Verfärbung bei der Bechholdschen Kupferprobe ist primär bedingt durch das Eindringen eines Fremdkörpers, der die Zellen zerreißt. Die hierbei freiwerdenden Stoffe reagieren miteinander und liefern Produkte, welche zur Melaninbildung führen (4). Ist der Fremdkörper ein Kupferblech, so löst der Zellsaft außerdem noch Kupfer auf, das sich in dem Bereich der geschädigten Zellen ausbreitet und einen aktivierenden Einfluß ausübt. Das Kupfer ist in diesem Reaktionsablauf also nur von sekundärer Bedeutung.

Wir verwendeten daher in einer Reihe von Versuchen an Stelle des Kupferblechstreifens runde Holzstäbchen von etwa 2½ mm Durchmesser, die wir in der üblichen Weise durch die Knolle hindurchführten). Auch diese geprüften Knollen wurden dann im Vegetationsversuch auf ihren Gesundheitszustand überprüft. Wir bringen nachstehend eine Auswahl von Beispielen aus diesen Versuchen.

Aus der nachstehenden Übersicht geht hervor, daß geprüfte Knollen mit niedrigen Indexwerten im Nachbau z. T. gesunde Pflanzen ergaben, während andererseits bei der Sorte Industrie eine Knolle mit dem Indexwert 1043 im Nachbau eine stark kräuselkranke Pflanze lieferte, die sich von der sortengleichen Knolle mit dem Wert 0 in keiner Weise unterschied. Eine sichere Beziehung zu den Indexwerten ergibt sich also auch hier nicht.

<sup>1)</sup> Versuche mit ähnlicher Fragestellung wurden auch von Bechhold und Kattermann angestellt.

Tabelle 22.

Sorte und Herkunft	Farbton nach Anwendung der Holzprobe	Index	Gesundheits- zustand im Vegetations- versuch
Parnassia — Dahlem (2). Parnassia — Dahlem (2). Parnassia — Dahlem (2). Parnassia — Mechow . Parnassia — Mechow . Parnassia — Mechow . Parnassia — Mechow . Industrie — Dahlem (2). Industrie — Mechow .	Unverfärbt Unverfärbt Unverfärbt Dunkelgrau Graubraun Braun Braun Unverfärbt Braun	0 0 0 38 231 520 756 0 1043	Krank Gesund Krank Gesund Gesund Gesund Krank Krank

Später wurde diese Versuchsanstellung noch mehrfach abgeändert. Die Holzstäbehen wurden mit Wasser, in anderen Versuchen mit Lösungen von Kupfersulfat u. a. getränkt. In allen Fällen ergab sich kein Anhalt für die Brauchbarkeit dieser Methoden. Wir können uns daher in diesem Zusammenhang mit dem Hinweis auf diese Versuche begnügen.

Auch die Verwendung von Glasstäben oder Objektträgern an Stelle des Kupferblechstreifens führte zu negativen Resultaten, soweit die an sich geringe Variantenzahl hier ein Urteil gestattete.

# 6. Zusammenfassung der Ergebnisse.

- 1. Der Zustand der Kupferblechbeschaffenheit ist für die Durchführung der Bechholdschen Kupferprobe von größter Bedeutung. Der Kupferblechstreifen muß glatt, dünn und scharfkantig sein. Die Kupferbleche müssen vor der Verwendung sorgfältig gereinigt werden. Die Verwendung oxydierter Kupferbleche hatte stets eine starke Vergrößerung der Verfärbungszone zur Folge.
- 2. Knollen, welche einen starken Wasserverlust während der Lagerung erlitten haben, sind ebenso wie kranke oder verletzte Knollen für die Kupferprobe nicht zu verwenden, da sie im Vergleich mit normal gelagerten bzw. gesunden Knollen stark unterschiedliche Werte ergeben.
- 3. Die Durchführung der Bechholdschen Kupferprobe an Knollenstücken bzw. Knollenhälften hat sich als undurchführbar erwiesen.
- 4. In Gewächshausversuchen mit geprüften Knollen ergaben sich bei der Verwendung zweier Herkünfte, welche als unterschiedlich im Gesundheitszustand bekannt waren, gute Übereinstimmungen zu den Ergebnissen der Kupferprobe. Bei Verwendung mehrerer Herkünfte einer Sorte, bei denen die Variation der Einzelwerte z. T. den gleichen Bereich umfaßte, war keine direkte Beziehung festzustellen.
- 5. Auf dem Versuchsfeld der Außenstation Mechow wurden 2500 geprüfte Knollen (26 Herkünfte bzw. 9 Sorten) im Feldanbau geprüft, deren Gesundheitszustand und Staudenertrag festgestellt wurden. Für das ge-

samte Versuchsmaterial war eine schwache positive Korrelation zwischen Gesundheitszustand und Indexwert der Kupferprobe festzustellen. Es zeigte sich jedoch, daß sich nur einzelne Sorten in den Rahmen der Gesamtkorrelation einfügen. Die Bechholdsche Kupferprobe ist daher nicht für alle Sorten in gleicher Weise anwendbar.

- 6. Die Versuchsergebnisse legen die Vermutung nahe, daß ein herkunftsbedingter Einfluß das Ergebnis der Bechholdschen Kupferprobe stark beeinflussen kann, wobei ersterer in keiner Beziehung mit dem Gesundheitszustand steht.
- 7. Zwischen dem Indexwert der Kupferprobe und dem Knollenertrag der Einzelstaude wurde eine schwache gesicherte positive Korrelation ermittelt (r  $\pm$  0,173  $\pm$  0,025).
- 8. Es wurde versucht, durch Abänderung der Bechholdschen Kupferprobe zu einer Verbesserung zu gelangen. Versuche mit Kartoffelknollen, die bei Temperaturen von  $0-2^{\circ}\mathrm{C}$  eingelagert wurden, führten zu negativen Ergebnissen. Das Gleiche gilt für die Versuche, bei denen an Stelle des Kupferblechstreifens Holz- bzw. Glasstäbe Verwendung fanden.

Zum Schluß unserer Ausführungen können wir unsere Versuchsergebnisse dahingehend auswerten, daß die Bechholdsche Kupferprobe ein diagnostisches Hilfsmittel zur Beurteilung des Gesundheitszustandes von Kartoffelknollen darstellt. Bei der Durchführung der Methode müssen wir uns jedoch vor Augen halten, daß es sich hier um eine komplex bedingte Reaktion handelt. Da wir von diesen Einzelfaktoren nur einige genauer übersehen können, so haben wir mit großen Versuchsfehlern zu rechnen, die eine praktische Verwendung der Methode wenigstens vorerst unmöglich machen. Die Bechholdsche Kupferprobe kann daher nur behelfsmäßig zur Orientierung herangezogen werden.

#### Literatur.

- 1 Aufsatzreihe "Zur Biologie der Kartoffel". Mitteilung 1—16, erschienen in den Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt, 1929—1932.
- 2 Bechhold, H. und Erbe, F., Studie über die Kolloidstruktur der Kartoffelknolle. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt, 1932, 20, 111.
- 3 Ehrke, G., Untersuchungen über die Eisenfleckigkeit der Kartoffel. Biochemische Zeitschrift, 1935, 278, 209.
- 4 Bechhold, H., Gerlach, W. und Erbe, F., Die Kupferprobe zur Untersuchung von gesunden und abgebauten Kartoffeln. Angewandte Chemie, 1934, 47. 26.
- 5 Kameras, A., Neueste Methoden zur laboratoriellen Bestimmung des Abbaues der Kartoffeln an den Knollen. Bull. appl. bot., 1934, ser. A, Nr. v, S. 63.

# Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.

Direktor: Professor Dr. E. Gäumann.

# Beitrag zur Kenntnis einiger Wurzelpilze.

Von

Sophie Renner, Zürich.

Mit 15 Textabbildungen.

Inhaltsverzeichnis: I. Einleitung. — II. Vorversuche. — III. Kultur der Versuchspflanzen und Syntheseversuche: A. Salix repens. B. Schoenus ferrugineus. C. Acer pseudoplatanus und andere Acerarten: a) Keimungsversuche mit verschiedenen Acerarten; b) Einwirkung differenzierter Nährlösungen auf die Keimlinge; c) Topfkulturen. — IV. Die Wurzelpilze. A. Isolierung und Nährmedien. B. Temperaturansprüche der Pilze. C. Änderung der H-Ionen-Reaktion durch den Pilz. D. Beeinflussung des Pilzwachstums durch Phosphatide. E. Stickstoffversorgung der Pilze: a) Kultur in N-habtiger Lösung; b) Kultur in N-freier Lösung. — V. Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

# I. Einleitung.

Das Problem der Wurzelpilze beschäftigt die Wissenschaft bereits seit 50 Jahren. Der erste, welcher die Materie in Angriff nahm, war Frank, der 1885 seine erste Arbeit darüber veröffentlichte. Er deckte die morphologische Natur der Erscheinung auf und führte den Namen Mykorrhiza dafür ein. Biologisch deutete er die Erscheinung als symbiontische Verbindung zwischen Pilz und Gefäßpflanze, wobei letztere außer Wasser und Mineralsalzen auch organische Nährstoffe erhalte. Die Hypothese einer Symbiose wurde 1900 von Stahl aufgenommen und ausgebaut. Er war der Ansicht, daß es sich vor allem um Pflanzen handle, welche, bei geringer Wasserdurchströmung und dadurch gehemmter Salzaufnahme, eines Pilzes zur Nährstoffvermittlung bedürften.

Die Auffassung einer symbiontischen Verbindung zeigen gleicherweise die Arbeiten von Tubeuf (1903), Sarauw (1903), Möller (1903) und Rexhausen (1925).

Woronin (1885) dagegen stellte die Theorie auf, daß es sich bei der Erscheinung der Mykorrhiza nicht um eine Symbiose handle, sondern um einen parasitären Befall der Pflanze durch den Pilz. In gleichem Sinne lauten die Ergebnisse der Untersuchungen von Fuchs (1911), McDougall (1914), Demeter (1923), Masui (1928) und Melin (1921 bis 1925), der umfassende Arbeiten über physiologische Zusammenhänge

zwischen Pflanze und Pilz in Reinkultur ausgeführt hat. Ernährungsphysiologisch kam er zu ähnlichen Resultaten wie Frank, auch er faßte den Pilz als stickstofflieferndes Organ auf, biologisch jedoch betrachtete er ihn als Parasiten, welcher von kräftigen Pflanzen unschädlich gemacht und verdaut werden könne, andererseits aber, bei starker Virulenz, die Wurzeln mehr oder weniger schädige. Melin wies auch die Beeinflussung der beiden Gleichgewichtspunkte nach — Virulenz des Pilzes — Gesundheit der Wurzel — durch Umweltsfaktoren wie Bodenreaktion, Vorhandensein organischer Verbindungen im Boden und deren Löslichkeit durch die Wurzeln, Vorkommen von Stoffen, welche das Pilzwachstum hemmen.

M. C. Rayner (1927) publizierte eine umfassende Zusammenstellung über die das Problem der Wurzelpilze berührenden Fragen und die Arbeiten, welche darüber existieren. Darauf, sowie auf die zuvor zitierten und andere, im Literaturverzeichnis angeführte Arbeiten, stützen sich die folgenden Untersuchungen, ausgeführt mit den Wurzelpilzen von Acer pseudoplatanus, Salix repens und Schoenus ferrugineus.

Es handelt sich dabei um folgende Fragen:

- 1. Lassen sich aus den Wurzeln der genannten Pflanzen Pilze isolieren? Wenn ja, welche Ansprüche stellen sie an Nährstoffe und Temperatur? Lassen sich die isolierten Pilze bestimmen?
- 2. Wie verhalten sich die Keimlinge der untersuchten Pflanzen bei steriler Aufzucht? Wie, wenn Pilze vorhanden sind?
- 3. Gelingt die Synthese der Pflanzenkeimlinge mit einem der isolierten Pilze?

Die vorliegende Arbeit wurde vom Sommer 1930 bis Frühjahr 1935 im Institut für spezielle Botanik an der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich ausgeführt. Ich danke Herrn Prof. Dr. E. Gäumann herzlichst für die Anregung zu der Arbeit, wie auch für das freundliche Interesse, welches er mir stets bewiesen hat.

#### II. Vorversuche.

Da sämtliche Orchideenarten eine anscheinend obligate Mykorrhiza zeigen, (Arbeiten von Bernard [1909], Burgeff [1931], Ziegenspeck [1925]), machte ich zuerst den Versuch, verschiedene Orchideensamen zum Keimen zu bringen. Verwendet wurden einheimische Erdorchideen, deren Samen aus dem Institutsgarten stammten, sowie einige tropische Formen, die uns eine Gärtnerei freundlichst zur Verfügung stellte. Als Nährboden diente Malzagar, (1,7% Agar, 4% Malzextrakt nach Dr. Wander) oder Agar + Lösung B.

Lösung $B = Ca(NO_8)_2$	1,0 g	(NH <sub>4</sub> ),SO <sub>4</sub>	0,5	g
K, HPO4	0,25 g	Glukose	22,0	g
$MgSO_4$	0,25 g	$H_2O$	1000,0	g
Fe <sub>2</sub> (PO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	0.05 c			

Es kam aber nur in zwei Fällen zur Samenvergrößerung und Borstenbildung (bei Gymnadenia conopea und Orchis masculus). In einem Fall (Cattleya Trianae) bildeten sich ein bis zwei kleine Blättchen sowie feine Saugwurzeln. Die Keimlinge wurden aber nur 1 bis 2 mm lang und starben dann ab. Auch durch Hinzuimpfen von isoliertem Pilzmaterial konnten sie nicht zur Weiterentwicklung gebracht werden. Infolgedessen wurden diese Vorversuche nicht weiter geführt.

Weitere Versuche gingen von der Erwägung aus, nach Möglichkeit wurzelpilzführende Pflanzen zu verwenden, die leicht keimen und deren Keimlinge rasch genug wachsen, um innerhalb kürzester Frist Synthese-

versuche mit ihnen ausführen zu können. Auf diese Weise kamen wir zu den drei in der Einleitung genannten Versuchspflanzen.

# III. Kultur der Versuchspflanzen und Syntheseversuche.

## A. Salix repens.

Da die Wurzeln von Salix repens von einem deutlich sichtbaren Pilzmantel umgeben sind und der Pilz sich leicht isolieren ließ, fixierte und schnitt ich einige Wurzeln. Zum Fixieren gebrauchte ich in allen Präparaten Juel 1 (Platinchlorid)

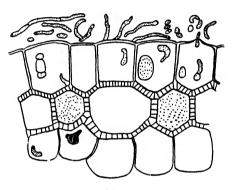


Abb. 1.
Salix repens-Wurzel.
Querschnitt × 250.

oder Juel II (Zinkchlorid 2 g, Eisessig 2 ccm, Alkohol 50 % 100 ccm). Zum Färben benutzte ich Eisenalaun-Hämatoxylin oder Safranin-Baumwollblau, gelöst in Laktophenolalkohol.

Abb. 1 zeigt einen Querschnitt durch eine Weidenwurzel. Der Pilz dringt nur wenig tief ins Innere der Wurzel ein. Deutlich sichtbar sind die Pilzfäden nur in der Epidermis sowie außerhalb derselben, wo sie mehrschichtig übereinander liegen. Innerhalb der Epidermis folgt gleich eine Schicht großer, dickwandiger Zellen, angefüllt mit feinverteilten Körnchen, wahrscheinlich ist es koaguliertes Eiweiß. An einer Stelle sieht man das Eindringen des Pilzes in eine Epidermiszelle, doch hat es den Anschein, als sei die Zellwand noch nachträglich aufgesprungen.

Ich wollte nun den Versuch machen, durch Stecklinge in Wasserkultur pilzfreie Wurzeln zu erhalten. Stengelstücke von Salix repens wurden oberflächlich mit Calciumhypochloritlösung abgewaschen und in steriles Leitungswasser gebracht, mit dem Wattepfropfen festgeklemmt und im Kalthaus aufgestellt. Nach vier bis fünf Wochen waren überall kleine Blätter ausgetrieben, und lange Wasserwurzeln hatten sich gebildet (Mitte Januar). Die Adventivwurzeln sind sehr dünn und unterscheiden sich

anatomisch von den echten Wurzeln durch zahlreiche Luftkanäle, Fehlen der Wurzelhaube und weiterer Schutzvorrichtungen gegen mechanische Verletzungen, sowie auch durch eine wenig differenzierte und nicht verdickte Endodermis. Die so erhaltenen Stecklinge wurden in Richardsche Nährlösung mit niedrigem Zuckergehalt überführt.

$KH_2PO_4$	0,5 g	$(NH_4)NO_8$	10,0 g
$MgSO_4$	2,5 g	Glukose	0,5 g
$KNO_8$	4,0 g	H <sub>2</sub> O	1000,0 g

Beim Umsetzen mußten die Wurzeln desinfiziert werden, da die Infektionsgefahr sonst zu groß gewesen wäre. Um die Stecklinge länger frisch zu halten, wurden sie unter Glasglocken mit befeuchteter Luft gestellt.

Mit den auf solche Weise erhaltenen Stecklingen wurden folgende Versuche gemacht:

1. Die Wurzelspitzen tauchten in Kulturen des isolierten Pilzes in flüssiger Nährlösung ein. Nach drei Tagen waren alle Blätter abgestorben und die Stengel schwarz geworden.

Kontrolle: Die Pflanzen, deren Wurzeln in Nährlösung ohne Pilz eintauchten, waren nach vier Tagen noch unverändert frisch.



Abb. 2.
Querschnitt
durch infizierte
Wasserwurzel
von
Salix repens.

Die giftige Wirkung der Pilzlösung hängt wahrscheinlich von Welkestoffen ab, welche durch den Stoffwechsel ausgeschieden werden (Großmann, 1934). Die Zusammensetzung dieses Toxins ist noch nicht bekannt.

2. Die Stecklinge wurden in Lösung Knop überführt.

Zusammensetzung:  $({\rm Ga(NO_3)_2} - 1,2 \ {\rm g} \ {\rm MgSO_4} - 0,3 \ {\rm g} \ {\rm KNO_3} - 0,3 \ {\rm g} \ {\rm KH_2PO_4} - 0,3 \ {\rm g} \ {\rm H_4O} - 1000,0 \ {\rm g}$ 

Bei der Hälfte der Kulturen wurde der Pilz hinzugeimpft. Nach 14 Tagen waren die meisten Wurzelspitzen von einem dichten, weißen Pilzmantel umgeben. Blätter und Stengel der infizierten Pflanzen, wie auch der pilzfreien Kontrollen, waren verdorrt. Mikrotomschnitte durch infizierte Wasserwurzeln (Abb. 2) zeigen jedoch, wie es

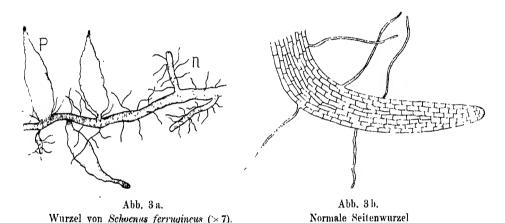
sich nur um eine oberflächliche Verpilzung handelt, daß hingegen keine Hyphen ins Innere der Wurzel eingedrungen sind. Dieser Umstand, sowie die veränderte Anatomie der Wasserwurzel und die Hinfälligkeit der Stecklinge führten dazu, die Kultur derselben aufzugeben und zunächst einen Versuch mit Salixsamen zu machen.

Die Samen reifen Ende Mai, keimen sofort und verlieren ihre Keimfähigkeit nach zwei bis drei Wochen. Sie sind ein bis zwei Millimeter lang, grün, in einen dichten Pelz von Flughaaren eingehüllt, die sich nicht benetzen lassen und ein Desinfizieren der Samen verunmöglichen. Durch Abschwemmen und Zentrifugieren ließen sich die Haare jedoch zum größten

Teil entfernen; hierauf konnten die Samen mit 1 % Sublimatlösung desinfiziert werden.

Dann wurden sie in 400 ccm Erlenmeyerkolben gebracht, deren Boden 3-4 cm hoch mit feinem Quarzsand (Korngröße 2 mm) bedeckt war, getränkt mit Knoplösung + Zusatz einer Spur Eisenchlorid. Der Nährboden wurde während 40 Minuten bei 120° ('sterilisiert, dann gab ich die Samen mit einer sterilen Pinzette hinein.

Von 160 derart beschickten Kolben blieben 60 ohne Keimung, entweder waren die Samen taub oder zu alt, oder das Sublimat hatte die Keimfähigkeit zerstört. In 100 Kolben begannen schon nach zwei Tagen die meisten Samen zu keimen. Nach sechs Wochen waren die Keimlinge etwa 2 cm hoch und hatten außer den Kotylen 1—2 kleine Blätter. Nach



Ablauf von weiteren sechs Wochen schienen sie kaum gewachsen zu sein, waren sehr zart und deshalb zum Versetzen in ein flüssiges Nährmedium und zur Synthese-ungeeignet. Möglicherweise ist es der Mangel an CO<sub>2</sub> in den mit Watte verschlossenen Kolben, welcher das Wachstum derart hindert; noch wahrscheinlicher liegt aber eine natürliche Hemmung vor, in der Weise, daß auch in der Natur die Keimlinge in diesem ersten Stadium überwintern und erst im folgenden Frühjahr weiterwachsen.

von Schoenus ferrugineus.

P = Pilzwurzel, n = normale Wurzel.

Ich beschränkte mich deshalb auf die Untersuchung des isolierten Pilzes, ohne mit Weidensamen weitere Syntheseversuche zu machen.

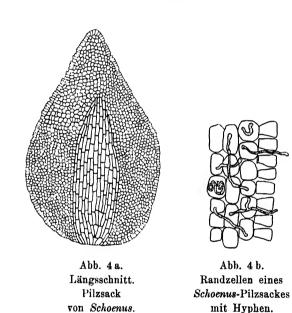
## B. Schoenus ferrugineus.

In der Arbeit von Stahl (1900) stehen die Cyperaccen unter den Pflanzenfamilien, bei denen keine Fälle von Mykorrhiza vorgefunden wurden. Stahl sieht die Ursache hierzu in der starken Wasserdurchströmung der Pflanze. Auch Schlicht, der schon 1888 eine lange Liste von wurzel-

pilzführenden Pflanzenarten aufgestellt hatte, führt darin kein Glied der Familie der Cyperaceen an, und Rippel (1931) stellt fest, daß wohl drei Viertel aller mitteleuropäischen Pflanzen verpilzt seien, mit sicherer Ausnahme der Glieder der Cruciferen, der Cyperaceen und der submersen Pflanzen.

Umso erstaunlicher erscheint es, daß wir an Stöcken der rostigen Kopfbinse (Schoenus ferrugineus), die Herr Dr. W. Koch im Glattal gesammelt hatte, zwischen den normalen zahlreiche außerordentlich verdickte Wurzeln fanden (Abb. 3a). Auch später an der Limmat gesammeltes Material bestätigte das regelmäßige Vorkommen der Anschwellungen.

Diese sind an jungen Wurzeln fast weiß, werden später gelb-braun und zuletzt beinahe schwarz. Sie sind  $\pm$  4 mm lang, im unteren Drittel



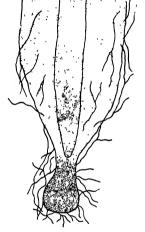


Abb. 4 c.
Älterer Pilzsack
von außen.
Spitze abgestorben.

1 bis 1,5 mm breit und spitzen sich gegen vorne zu. Die Spitze ist häufig dunkel verfärbt. Sie tragen keine Wurzelhaare, sind an jungen Wurzeln prall, später schrumpft ihre Oberfläche etwas ein. Die normalen Seitenwurzeln gleicher Ordnung (Abb. 3b) sind 2 bis 3 mm lang,  $\pm$  2,5 mm breit, werden an der Spitze nicht schmäler und sind an jungen Wurzeln weiß, an älteren braun. Sie tragen, mit Ausnahme des vorderen Viertels, reichlich Wurzelhaare.

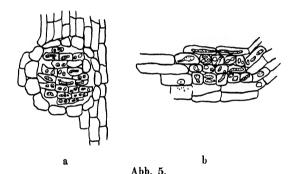
An Handschnitten der Anschwellungen (Abb. 4a) sehen wir in der Mitte einen dunkeln Streifen aus fest aneinandergefügten, länglichen Zellen. Er besteht aus 8 bis 12 Längs-Zellreihen und entspricht in Breite und Bau der normalen Wurzel. Daran schließt sich ein helles Gewebe aus parenchymatischen Zellen an, 15 bis 25 Reihen breit, die Zellen sind

klein und abgerundet. Nur diejenigen der äußersten Schicht sind radial verlängert und etwas vergrößert (Abb. 4b).

Die Anschwellungen sind regelmäßig verpilzt. Abb. 4b zeigt das Eindringen der Hyphen zwischen die Epidermiszellen, Abb. 4c das untere Ende eines älteren Säckchens, reichlich von Pilzhyphen umsponnen. Abb. 5a und b stellen Stücke von Mikrotomschnitten durch Pilzsäcke dar. Hier sind die Hyphen in kleineren Zellgruppen des Parenchyms angehäuft und meist quer oder ein wenig schräg geschnitten.

Die Isolierung des Pilzes und seine Eigenschaften werden in einem späteren Abschnitt besprochen, zu Syntheseversuchen konnte der Pilz nicht benutzt werden. Es läßt sich daher noch nicht sagen, ob die Verdickung durch einen spezifischen Reiz des Pilzes entsteht.

Nach den Beschreibungen von Melin (1923) und Masui (1931) entstehen die Knollen der Koniferen-Mykorrhiza durch den Pilzmantel,



Schnitte durch ein Pilzsäckchen von Schoenus ferrugineus (×70).

dessen Zellen ein Pseudoparenchym bilden, während der Bau der Wurzel im Innern unverändert ist.

Die Säcke von Schoenus dagegen sind echte Tumorbildungen, wie sie meines Wissen's in der Mykorrhiza-Literatur noch nicht beschrieben worden sind.

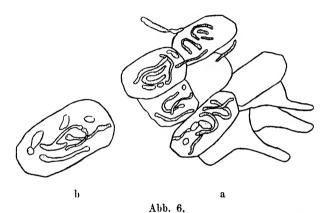
Die Samen von Schoenus wurden Ende Juni gesammelt, aus den Spelzen herausgeschält und eine halbe Stunde in schwacher Chlorkalklösung desinfiziert. Als Nährmedien dienten:

- 1. Malzagar in schräger Schicht.
- 2. Ein Gemisch von fein gemahlenem Sphagnum und Polypodium, getränkt mit Leitungswasser.
  - 3. Dasselbe, getränkt mit einer Nährlösung.

In allen drei Fällen waren teils sterile Samen allein ausgesät, teils kleine Stücke des Myzels des isolierten Pilzes dazu geimpft worden, ein Teil der Kulturen wurde während einer Woche im Kühlkeller bei  $\pm-1\,^{\circ}\mathrm{C}$  aufgestellt. Nirgends konnte eine Keimung beobachtet werden. Ich übergab

daher die Samen Herrn Dr. Koblet (Versuchsanstalt Oerlikon), welchem ich für seine Bemühung bestens danke. Er setzte die Samen sechs Tage lang trockener Kälte aus, hielt sie danach sehr feucht und erzielte durch diese Maßregeln einen Keimling aus dem zahlreichen Material. Dieser wurde etwa 3 cm lang, wuchs nicht weiter und war sehr zart gebaut, so daß auch in diesem Falle nicht an Syntheseversuche gedacht werden konnte.

Die eine Keimung, welche erreicht wurde, zeigt aber doch, daß es sich nicht um ein absolutes Keimungshindernis handeln kann, sondern



Handschuitt einer frischen Wurzel von Acer platanoides (Safranin-Baumwollblau).

a) × 125. b) Eine Zelle mit Myk. (× 165).

daß offenbar längere Ruhezeit und Einwirkung der Winterkälte dazu notwendig sind. In der Arbeit von Kinzel (1913) werden die Keimungsbedingungen von *Schoenus* nicht erwähnt.

### C. Acer pseudoplatanus und andere Acerarten.

a) Keimungsversuche mit verschiedenen Acerarten.

An Handschnitten junger, noch unverzweigter Wurzeln von einjährigen Acer platanoides (Abb. 6) bemerkte ich, daß die Zellen mit zahlreichen, verschlungenen Pilzfäden angefüllt waren. Auch Mikrotomquerschnitte von Acer pseudoplatanus (Abb. 7) zeigten beinahe alle Zellen der Rindenschicht durchsetzt von Hyphen. Außerhalb der Epidermis fand ich nur wenige Fäden, konnte auch leider in keinem Präparat eine Stelle finden, wo der Pilz ins Innere der Wurzel eindringt. In dem Längsschnitt (Abb. 8) weist an einem Punkt die Zellwand am Durchbruch des Pilzes eine Verdickung auf, wie sie der von Burgeff beschriebenen Buchsenbildung entspricht.

An manchen Stellen (Abb. 7) sind die Hyphenschlingen in den Zellen nicht deutlich zu erkennen. Es ist aber schwierig zu entscheiden, ob es sich um Pilzverdauung handelt oder um Schrumpfungsvorgänge bei der Fixierung. Auch dunklere Farbklumpen, besonders in den äußeren Zellen, können ebensogut koaguliertes Eiweiß sein wie sonstige Zelleinschlüsse oder Ueberreste verdauter Hyphen.

Unterschiede zwischen Pilzwirts- und Pilz-Verdauungszellen waren nicht zu erkennen.

Es gelang auch, den Pilz zu isolieren, obschon Frank ausdrücklich festgestellt hatte, daß sich bei Ahorn keine Mykorrhizen vorfänden. Zu den ersten Syntheseversuchen gebrauchte ich einjährige Keimpflanzen von

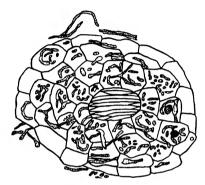


Abb. 7.

Acer pseudoplatanus.
3 jährige Wurzel (Querschnitt).

× 35.

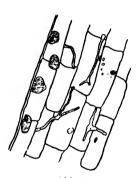


Abb. 8.

\*\*Acer pseudoplatanus.\*\*
3 jährige Wurzel (Längsschnitt),
in den Randzellen dunkle Farbflecken.

(Protoplasma?) (×85).

Acer pseudoplatanus. Die Wurzeln wurden mit einer Lösung von Uspulun (Chlorphenolquecksilber) 0,25% während einer halben Stunde desinfiziert und in sterilem Wasser gut gespült. Hierauf setzte ich 15 Pflänzchen in Reagensgläser mit Knoplösung ein. Nach 14 Tagen waren die meisten Pflanzen noch frisch, und ich impfte den inzwischen aus den Wurzeln isolierten Pilz dazu. Nach weiteren 11 Tagen waren, mit Ausnahme von drei Kulturen, alle abgestorben, ihre Wurzeln waren nicht mehr gewachsen. Ferner verwendete ich dreijährige, im Wald gesammelte Ahornpflänzchen. Desinfektion wie oben; nach 13 Tagen waren die Blätter etwas gewachsen, nach 27 Tagen die Kolben angefüllt mit langen, wenig verzweigten Wurzeln, die Blätter voll entfaltet und schön grün. Nun wurde bei der Hälfte der Kulturen der isolierte Pilz dazu geimpft. Nach drei Wochen, am 20. Mai. waren die Pflanzen ohne Pilz doppelt so groß wie die mit Pilz, von letzteren überhaupt nur noch drei am Leben. Am 9. Juni hatten die Pflanzen ohne Pilz zehn bis zwölf Blätter, die mit Pilz deren zwei bis fünf. Die Wurzeln der letzteren zeigten deutlich die korallenartigen Verzweigungen der Mykorrhiza (Abb. 9). Diese Ergebnisse lassen auf eine stark pathologische Wirkung der Infektion schließen. Da uns zur Impfung ganz junge, möglichst steril herangezogene Pflanzen erwünscht er-





c phot. Prof. Büst. Abb. 9.

Wasserwurzel von Acer pseudoplatanus.

a) Ungeimpft. b) Geimpft mit dem aus Salix isolierten Pilz.

c) Geimpft mit dem aus Acer isolierten Pilz.

schienen, machten wir den Versuch, die Samen von Acer pseudoplatanus, Acer platanoides, Acer negundo, Acer tataricum, Acer polymorphum, Acer saccharinum und Acer dasycarpum keimen zu lassen. Sämtliche Samen müssen eine Ruhezeit an kühlem Ort durchmachen und keimen erst im zeitigen Frühjahr (ab Februar). Das Stratifizieren der Samen, wie es von Gärtnern ausgeübt wird (d. h. das Aufbewahren der Samen in Schichten zwischen Sand und Moos), um sie erst nachher zu desinfizieren, bewährte sich nicht. Viele Samen waren hernach angefault oder sie hatten schon begonnen zu keimen, so daß die Desinfektionsmittel die zarten Wurzeln schädigten. Auch das Behandeln mit Uspulun war nicht wirksam, da das Abspülen mit sterilem Wasser die notwendige Nachwirkung des Mittels hinderte. Die beste Erfahrung machte ich mit folgendem Vorgehen: Im Herbst (Oktober bis November) Sammeln der Samen, möglichst direkt vom Baum, Entfernen der Flügel, oberflächliche Reinigung in lauwarmem Wasser, welches gleichzeitig die Fruchtschale etwas aufweicht, Schälen, Sterilisieren in Sublimatlösung 1% drei bis vier Minuten, Nachspülen in sterilem Wasser und Überführen von fünf bis sechs Stück in 400 er Erlenmeyerkolben mit Quarzsand und Knoplösung. Der Sand muß gut feucht sein, ohne daß jedoch die Flüssigkeit übersteht.

Diese Kolben standen während des ganzen Winters im Kühlraum bei  $\pm 0\,^{\circ}$ C. Im Februar begannen die Samen zu keimen, blieben aber im Kühlen und Dunkeln bis Ende März. Nun waren die Wurzeln 4 bis 5 cm lang, die Kotylen entfaltet und die erste Knospe ein Stück weit herausgewachsen. Die verschiedenen Sorten von Ahornsamen keimten nicht alle gleich gut, auch zeigte es sich, daß man nicht wohl daran tat, gekaufte Samen zu verwenden, deren Alter man nicht kannte. Ich beschränkte mich daher für weitere Aussaaten auf selbstgesammeltes Material von Acer pseudoplatanus.

Die Keimungsprotokolle der anderen Arten sollen jedoch, wenn auch kurz, angeführt werden. In sämtlichen Fällen wurden die Keimlinge, sobald sie genügend erstarkt waren, aus den Kolben herausgenommen, im Impfkasten einzeln in Knoplösung versetzt und die Berührungsstelle zwischen Glas und Wattepfropf mit Watte umwickelt. Die Wurzeln blieben auf diese Art steril, während die Blätter sich frei entfalten und assimilieren konnten, da die Kulturen nun an ein Nordfenster gestellt wurden.

Acer polymorphum: keine Keimung.

Acer tataricum: einige vereinzelte Keimungen.

Acer negundo (stratifizierte Samen):

- 23. April, gesät.
- 12. Mai, in Kolben mit Knoplösung versetzt.
- 19. Juli, geimpft.
  - 3 Exemplare Kontrolle.
  - 4 Exemplare mit Pilz aus Acer pseudoplatanus.
  - 3 Exemplare mit Pilz aus Salix repens.

Alle Pflanzen gleichmäßig, mit langgestreckten Trieben, 14 bis 16 Blättern, stark verzweigten Wurzeln.

Anfang September, Laubfall, Triebe gesund, Wurzeln unverändert.

Folgendes Frühjahr, kein Blattausschlag, Stämmchen abgestorben.

Alle Kulturen gleichmäßig, keine Infektion.

Acer saccharinum (stratifizierte Samen):

- 6. Mai, gesät.
- 23. Mai, in Knoplösung versetzt.
- 19. Juli, geimpft, je drei Exemplare wie bei Acer negundo.

Die Pflanzen blieben alle sehr kurz, dunkelgrün, mit etwa sechs Blättern, spärliche, wenig verzweigte Wurzeln.

Anfang September, Laubfall, Wurzeln unverändert.

Folgendes Frühjahr, alle Kulturen abgestorben. Keine Infektion.

Acer dasycarpum: 20. Juni, gesät.

- 10. Juli, in Knop versetzt.
- 22. August, geimpft, Samen rasch und gut keimend, aber schwierig steril zu erhalten, da sie fettig sind. Keine Infektion, die Hälfte der Pflanzen gut entwickelt, der Rest verkümmert, stark chlorotisch.

Acer pseudoplatanus: gesät im Oktober, im Kühlraum überwintert und gekeimt. 26. Mai, 23 Exemplare in Knoplösung überführt.

- 6 Exemplare zur Kontrolle.
- 10 Exemplare geimpft mit Pilz aus Acer pseudoplatanus.
  - 7 Exemplare geimpft mit Pilz aus Salix repens.

Alle mit 4 bis 6 Blättern, jedoch von verschiedener Größe.

- Juni, die Kontrollpflanzen haben kurze Triebe, die Blätter sind gleichmäßig grün. Geimpfte Pflanzen haben gestreckte Triebe, die Blätter sind klein, rötlich angelaufen.
- 20. Juni, die Pflanzen sind 20 bis 30 cm lang, haben 8 bis 12 Blätter; alle sind etwas rot gefärbt, die Wurzeln sind zum Teil vom Pilz angegriffen.
- 20. Juli, die neuentwickelten Blätter sind klein, bleich und etwas kraus, an den Wurzeln der geimpften Pflanzen (beider Pilzsorten) entwickelten sich rosettenartige Knöllchen und kleine verdickte Seitenwurzeln.

Anfang September, Laubfall.

Kontrollen mit normalen Wurzeln, sehen kräftiger aus als die geimpften.

Die Anzucht von sterilen Keimlingen ist also bei den meisten Acerarten möglich, wenn auch schwierig, da immer ein großer Teil der Samen überhaupt nicht keimfähig ist. Die Samen sind auch häufig nicht steril; besonders nach feuchtem Herbstwetter sind viele mit Pilzen infiziert, welche der Desinfektion widerstehen und auch bei — 1°C noch üppig wachsen. Zu intensive Desinfektion zerstört im übrigen die Keimfähigkeit des Samens. Aus diesen Gründen standen nur wenige Exemplare jeder Art zur Verfügung. Eine Bildung von Mykorrhizen wurde nur bei Acer pseudoplatanus erreicht, und zwar durch zwei Pilze, die sich wohl äußerlich sehr ähnlich sahen, aber aus Pflanzen zweier Phanerogamenfamit isoliert worden waren.

b) Einwirkung differenzierter Nährlösungen auf die Keimlinge.

Im folgenden Herbst säte ich nochmals etwa 2000 Samen von Acer pseudoplatanus in der oben beschriebenen Weise aus. Durch Infektionen

der Samen und Schwarzwerden der jungen Wurzelspitzen wurde jedoch der Abgang so groß, daß im Frühjahr nur noch etwa 100 zu weiteren Versuchen geeignete Keimlinge zur Verfügung standen.

Diese mußten zunächst in Knoplösung noch etwas erstarken und wurden erst nach Entfaltung von zwei bis vier Blättern in differenzierte Nährlösungen versetzt.

Hier variiert der Gehalt von Kalium, Stickstoff, Kalzium und Phosphor von normal (n) auf Halbnormal (n/2), Doppeltnormal (2n) und Vierfachnormal (4n). Die als Normal (n) bezeichnete Lösung enthält pro Liter  $H_2O$ :

0,21 g Ca, 0,20 g K, 0,18 g N, 0,14 g P,

was den Mengen der gewöhnlichen Knoplösung entspricht.

Ferner wurden einige Kulturen angelegt mit Knoplösung und Lösungen, worin der Reihe nach Ca, K, N und P weggelassen wurde, = 0 Ca, 0 K, 0 N, 0 P (Tabelle 1).

 ${\bf Tabelle~1.}$  Zusammensetzung der differenzierten Nährlösungen für Acerkeimlinge.

	Bei	jeder	Lösung	$H_2O$	1000,0	g,	$MgSO_4$	0,3	g,	$\mathbf{FeCl_{8}}$	Spur.	
Ferner:												

Bezeichnung der Lösung	KNO <sub>s</sub>	K,SO4	(NH <sub>4</sub> )NO <sub>8</sub>	(NH <sub>4</sub> )H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	CaNO <sub>8</sub> •4H <sub>1</sub> O	CaHPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	кн, РО4
Losung	g	g	g	g	g	g	g
			0.50			0.00	
n		0,45	0,52			0,88	
K n/2		0,23	0,52	_		0,88	
K 2n	_	0,90	0,52	-		0,88	
K 4n	`	1,80	0,52			0,88	
N n/2		0,45	0,26			0,88	
N 2n		0,45	1,04			0,88	
N 4n		0,45	2,08			0,88	
Ca n/2	·	0,45		ŏ,12	0,62	_	
Ca 2n		0,45		0,50	2,48		
Ca 4n		0,45		1,00	4,96		_
Pn2	<b>—</b> .	0,45	0,23		0,60	0,44	
P 2n		0,45	0,43	0,25		0,88	***************************************
P4n		0,45	0,49	0,75		0,88	
Knop	0,30				1,20		0,80
0 Ca	0,30		0,40				0,30
0 K			_	0,30	1,20		
0 N			_			_	0,90
0 P	0,60		_ ]		1,00		-

Es wurden pro Nährlösung fünf bis sechs Keimlinge angesetzt, wovon je zwei mit dem Pilz von Acer geimpft wurden. Trotzdem das Myzel an nicht zu kleinen Agarstücken hing, wuchs der Pilz in der zuckerfreien Lösung gar nicht heraus, in keinem Fall fand eine Infektion statt.

Die Daten der auf diese Weise behandelten Kulturen sind:

Aussaat im Oktober 1933.

Versetzen in Knoplösung im März 1934.

Tabelle 2. Wachstum der Acerkeimlinge in differenzierten Nührlösungen.

m m	Lösung nach Tabelle 1
4万4463445564444844	Anzahl der Kulturen
	Blattzahl am 4. Juli
7,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0	Blattzahl Ende September
20,8 117,7 115,8 31,1 114,6 31,1 31	Blattfläche je Pflanze cm³
(54,2 ± 9,3) (50,6 ± 12,8) (49,5 ± 12,8) (102,7 ± 8,1) (61,4 ± 5,2) (112,7 ± 31,4 82,8 ± 3,7 72,4 ± 8,9 90,3 ± 6,8 88,5 ± 31,1 145,5 ± 50,8 211,7 ± 59,2 60,8 ± 8,6 87,2 ± 32,6)	Trockengewicht der Blätter mg
112,0 112,0 112,0 113,0 113,0 113,0 113,0 113,0 114,1 115,8 117,7 114,1 115,8 117,1 11	Wurzellänge
11 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	Stammlänge cm

Versetzen in die differenzierten Lösungen, 10. Juni 1934. Verarbeiten der Kulturen im September 1934.

Die Kolben standen in einem Saatbeet mit Glasdeckel und Schattierung. Mitte Juli wurde das verbrauchte Wasser durch steriles, destilliertes ersetzt.

Den Einfluß auf das Wachstum zeigt Tabelle 2.

Die Blattflächen wurden mit dem Planimeter von G. Coradi gemessen, das Trockengewicht bestimmte ich nach vier Stunden bei 104° im tarierten Wägeglas. Die eingeklammerten Werte für die Trockengewichte sind errechnet aus dem Faktor 25,8°/0 des Frischgewichtes — dem Mittel der gewogenen Differenzen zwischen Frischgewicht und Trockengewicht. — Die Stammlänge ist gemessen vom Wurzelansatz bis zur Endknospe, die Wurzellänge vom Wurzelansatz bis zur Wurzelspitze.

Wie die Unterschiede zwischen den beiden Blattzahl-Kolonnen zeigen, fielen während der Monate Juli und August vereinzelte Blätter ab, dadurch ist in der Mehrzahl der Fälle die Menge der gemessenen und gewogenen Blätter kleiner als die der wirklich gebildeten. Neue Blätter, die noch im August entstanden, waren klein, meist etwas chlorotisch und häufig schlecht geformt. Ein großer Teil der Blätter war auf der Unterseite mit Eiern und Larven einer Mottenschildlaus (Aleyrodes-Art) besetzt, die den Kulturen aber noch keinen sichtbaren Schaden getan hatten und vor dem Wägen entfernt wurden.

- Variation von Kalium. Bei zuerst gleichmäßiger Blattzahl zunehmender Blattverlust bei gesteigertem K, geringe Abnahme der Blattfläche, stärkere Gewichtsabnahme, Schwankung der Länge gering, die zuletzt gebildeten Blätter klein und gelb oder rötlich gefärbt.
- Variation von Stickstoff: Kulturen mit N n/2 zeigten besseres Wachstum als die mit N n, bei gesteigerten N Abnahme von Fläche und Gewicht. Wurzeln schlecht ausgebildet, besonders bei N 4n gar keine Wurzelfasern, die Blätter mit wenigen Ausnahmen schön grün, mit sehr langen Blattstielen.
- Variation von Kalzium: Hier zeigte sich der Nachteil von zu starken (†aben eines einzelnen Nährstoffes besonders deutlich. Ca n/2 hatte außergewöhnliche Blattzunahme, Maximum aller Kulturen an Blattfläche und Trockengewicht, sehr lange Wurzelfasern. Bei Ca 4n waren sämtliche Blatter und die oberen Stammteile verdorrt, ein Teil der Blätter schon abgefallen, die Wurzeln kurz. Anfang Juli waren diese Unterschiede noch nicht zu sehen.

Variation von Phosphor: Blattzahl wenig geändert, Flächenzunahme gegenüber Pn gering, innerhalb der Fehlergrenze liegend, Gewichtszunahme bei Pn/2, 2n, 4n etwa 70 % gegenüber Pn. Wurzeln kurz.

Die eigentliche Knoplösung erwies sich viel günstiger für das Wachstum, als die von mir zusammengestellte n-Lösung. Blattfläche, -zahl, -trockengewicht gleichmäßig doppelt so groß, mit viel kräftigeren Wurzeln bei annähernd gleicher Stammlänge. Eine nochmalige Verdopplung von Fläche und Gewicht und besonders größe Pflanzen ergaben die Kulturen ohne Kali, eine Erscheinung, die bei der geringen Anzahl der Kulturen nicht unter-

sucht werden konnte und daher ohne Erklärung registriert sei. Den erwarteten Rückgang zeigten nur die Kulturen ohne Stickstoff, diese ergaben Zahlen, die immer noch den Werten der sogenannten n-Lösung entsprachen bei besonders lang und kräftig entwickelten Wurzelfasern.

Die Tabelle zeigt deutlich den Einfluß der verschiedenen Nährlösungen. Die mittleren Fehler sind zum Teil groß, da die Pflanzen natürlich von Anfang an nicht in gleicher Weise entwickelt und gleich kräftig waren. Diese Fehler könnten nur durch eine sehr hohe Anzahl von Versuchspflanzen korrigiert werden, ein Versuch, der aus dem Rahmen dieser Arbeit herausfallen würde.

#### c) Topfkulturen.

Da in den flüssigen Nährmedien die Pilze nicht wuchsen, wählte ich ein Dutzend Pflanzen aus, um sie in Töpfen in steriler Erde weiter zu ziehen. Zur Sterilisation tränkt man die Erde mit 2% Formalinlösung und läßt sie 48 Stunden stehen. Das Formalin wird bei 60°C im Thermostaten verdampft, die Erde mit sterilem Wasser angefeuchtet und zerkleinert. Die leeren Töpfe wurden während zwei Stunden bei 140° sterilisiert. Sieben Töpfe wurden mit dem Pilz geimpft, fünf blieben ohne Die Kulturen standen in einer Infektionskabine und wurden regelmäßig mit sterilisiertem-destilliertem Wasser begossen. Die Luft hielt man feucht. Am 4. Juli versetzte ich die Pflanzen in die sterile Erde. Ende September wurden auch diese Pflanzen untersucht. Sie zeigten alle viel stärkeres Wachstum als die in den flüssigen Kulturen. Die Blattrockengewichte betrugen ungefähr 0,5 g bei ziemlich großen Schwankungen der einzelnen Pflanzen. Die Mittelwerte sind, mit Ausnahme der Stammlänge, durchwegs für die geimpften Pflanzen größer als für die ungeimpften, immerhin liegen die Differenzen innerhalb der Fehlergrenze. Wahrscheinlich würde erst eine mehrjährige Kultur ein typisches Bild ergeben. Die Wurzeln der geimpften Pflanzen waren dichter und buschiger als die der ungeimpften.

Von jeder Kultur fixierte ich einige Wurzeln und legte kleine Wurzelstücke auf Malzagar aus.

Die Verarbeitung der Pflanzen ergab folgende Werte (Tabelle 3):

Tabelle 3. Wachstum der Acerkeimlinge bei Kultur in steriler Erde.

			Blattzahl Mitte Juli		nache	Trocken- gewicht der Blätter mg	Wurzel- länge cm	Stamm- länge cm
Ohne Pilz Mit Pilz .	:		$\begin{vmatrix} 5,6 \pm 1,2 \\ 6.0 \pm 0.9 \end{vmatrix}$	$11,4 \pm 1,6$ $13.6 \pm 1.9$	125,4 ± 17,6 148.8 ± 14.8	460 ± 54 508 + 56	$18,0 \pm 2,3$ $18.1 \pm 1.7$	16,0 ± 0,9 13.0 ± 1.0

Durch Sterilisieren der Erde waren ohne Zweifel alle Keime von Bodenpilzen zerstört worden; daß solche in der geschlossenen Infektionskabine wieder eindringen konnten, ist nicht anzunehmen, dagegen ließ sich eine nachträgliche Infektion mit Schimmelpilzen aus der Luft nicht vermeiden. Deshalb mußten die ausgelegten Wurzelstücke sorgfältig mit Sublimatlösung desinfiziert werden, was eine so weitgehende Schädigung zur Folge hatte, daß leider kein Pilz mehr auswuchs. Die meisten Kulturen blieben steril, einige weniger sorgfältig desinfizierte zeigten Infektion mit Penicillium.

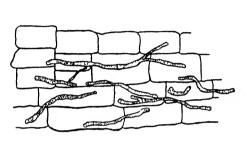


Abb. 10.
Wurzelschnitt von Acer
aus Topfkultur.
× 100.

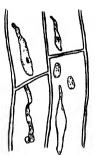


Abb. 11.

Einzelne Randzellen
einer Acerwurzel aus Topfkultur.

× 300.

Von den fixierten Wurzelstücken wurden Handschuitte hergestellt, mit Safranin-Baumwollblau-Laktophenolalkohol gefärbt. Ich fand Pilzhyphen in fünf geimpften Wurzeln, bei zwei geimpften und allen ungeimpften jedoch keine. (Abb. 10 und 11).

Bei drei pilzlosen Kulturen konnte ich keine Stärke feststellen, alle andern enthielten reichlich Stärke, besonders in den Zellen des Zentralzylinders.

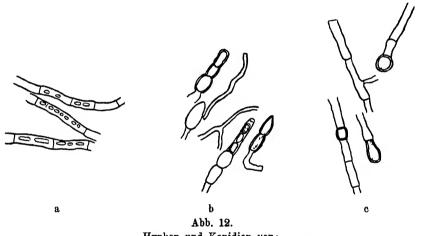
## IV. Die Wurzelpilze.

### A. Isolierung und Nährmedien.

Zur Isolierung der Pilze verwendete ich die Methode von Bernard: Man reinigt unter der Wasserleitung kleine Wurzelstücke von anhaftendem Schmutz, desinfiziert kurz in Sublimatlösung (1 %)00 und spült in sterilisiertem Wasser nach. Dann zerschneidet man die Wurzel mit sterilisierten Instrumenten und gibt die so präparierten Stücke auf Malzagar (schräge Fläche in Reagensgläsern). Die gesamten Manipulationen geschehen im Impfkasten, der mit Formaldehyddämpfen regelmäßig sterilisiert wird. Objektträger als Unterlage, Skalpell und Pinzette wurden stets von neuem in Alkohol getaucht und abgeflammt. Ein großer Teil der angelegten Kulturen blieb jeweils steril, sei es, weil Stücke ohne Myzel verwendet wurden, sei es, daß die Desinfektion zu gründlich war. Infektionen mit Schimmelpilzen oder Bakterien waren ziemlich selten.

In einigen Fällen wuchs bei jeder Isolation ein Pilz aus dem Wurzelstück heraus, welcher in allen Parallelkulturen gleich aussah, aber nicht bestimmt werden konnte, da er keine Fruchtkörper bildete. Man muß diese Pilze deshalb zu den Fungi imperfecti rechnen.

Ich nannte sie nach dem Beispiel von Melin Mycelium radicis (M. R.) Aceris pseudoplatani, bzw. Salicis repentis oder Schoeni ferruginei. Alle drei Pilze zeigen im Habitus große Ähnlichkeit. Sie haben weißes Luftmyzel, das auf der Unterlage rasch braun wird. Die Hyphen sind überall septiert (Abb. 12 a bis c), beim Acer- und Schoenuspilz sind sie 5 bis 6  $\mu$  breit, beim Salixpilz nur 2 bis 3  $\mu$ . M. R. Aceris enthält reichlich Öl als Nahrungsreserve, die beiden andern haben nur vereinzelte Tropfen. M. R. Salicis und Schoeni schnüren an den Hyphenenden Konidien ab, die manchmal ganze Ketten bilden.



Hyphen und Konidien von:
a) M. R. Acerts b) M. R. Salicis c) M. R. Schoeni.
× 300.

Zum Isolieren und Aufbewahren der Pilze bewährte sich Malzagar als Unterlage, sämtliche Pilzkulturen wuchsen gut darauf.

Um die Temperaturansprüche zu prüfen, wurden die Pilze in eine zuckerhaltige Knoplösung abgeimpft. Als günstig für das Wachstum bewährte sich ein Zusatz von  $4\,^{\circ}/_{o}$  Rohrzucker.

#### B. Temperaturansprüche der Pilze.

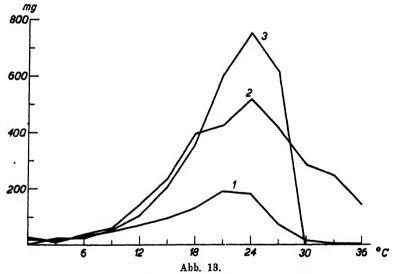
Beim Impfen wurden möglichst kleine Myzelstücke verwendet und je zehn Kolben in die Thermostaten gestellt (0 $^{\circ}$  bis 36 $^{\circ}$ , in Abständen von je 8 $^{\circ}$ , dargestellt in Tabelle 4).

Die Versuche dauerten für M. R. Aceris 18 Tage, für M. R. Salicis 21 Tage, für M. R. Schoeni 12 Tage. In der Tabelle sind alle Werte auf die Versuchsdauer von 18 Tagen umgerechnet.

		- F	10 1mg 04;
Temperatur • C	1. M. R. Aceris mg	M. R. Salicis mg	8. M. R. Schoeni mg
0 8 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33	23,6 ± 0,42 17,5 ± 2,6 35,1 ± 3,4 49,5 ± 4,5 71,3 ± 6,1 93,0 ± 7,5 182 5 ± 6,1 197,6 ± 24,0 194,3 ± 10,0 78,2 ± 15,3 14,7 ± 1,8 Spur Spur	$\begin{array}{c} 26,7 \pm 2,2 \\ 16,9 \pm 2,0 \\ 37,8 \pm 3,9 \\ 58,4 \pm 5,5 \\ 142,1 \pm 18,1 \\ 285,0 \pm 30,9 \\ 895,1 \pm 21,0 \\ 425,1 \pm 38,6 \\ 521,5 \pm 27,3 \\ 416,3 \pm 27,3 \\ 416,3 \pm 19,2 \\ 247,9 \pm 15,1 \\ 146,2 \pm 11,7 \end{array}$	kein Wachstum  25,2 ± 2,2  26,1 ± 2,1  52,5 ± 2,8  106,5 ± 11,7  205,9 ± 14,7  356,7 ± 24,4  605,7 ± 48,9  756,0 ± 52,5  616,2 ± 36,1  kein Wachstum  kein Wachstum  kein Wachstum

Tabelle 4. Zuwachs der Pilze in flüssiger Knoplösung in 18 Tagen.

Tabelle 4 zeigt, daß es sich bei den isolierten Pilzen, trotz äußerer Ähnlichkeit, um verschiedene Stamme handeln muß (Abb. 13). Der Pilz



Einfluß der Temperatur auf das quantitative Myzelwachstum. 1 = M. R. Acerus. 2 = M. R. Salicis. 3 = M. R. Schooni.

von Schoenus weist viel stärkeres Wachstum in engeren Temperaturgrenzen auf. Am wenigsten Myzel bildet der Pilz von Acer, dessen Optimum bei 21° liegt, während die Optima der beiden andern Formen bei 24° liegen. Bei 21° wächst beim Saluxpilz doppelt soviel Myzel wie bei dem von Acer, bei dem von Schoenus dreimal so viel. Bei den Temperaturen bis 9° sind die Unterschiede zwischen den drei Formen klein, bei Temperaturen über

27° wächst einzig der Salixpilz, die beiden andern Kurven fallen sehr steil ab.

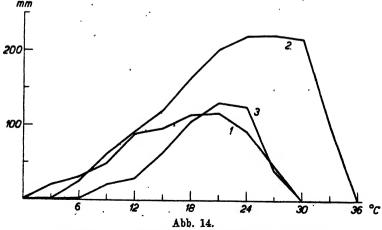
Eine zweite Versuchsreihe prüfte das Myzelwachstum auf festem Nährboden bei verschiedenen Temperaturen (Tabelle 5). Zu diesem Versuch wurden Kolleschalen verwendet, gefüllt mit 150 ccm Malzagar, welcher eine etwa <sup>1</sup>/<sub>2</sub> cm dicke Schicht bildet.

Zuwachs	der Pilze auf Maiz	agar (Moneschalen	in 18 Tagen.
Temperatur	1. M. R. Aceris mm	2. M. R. Salicis mm	3. M. R. Schoeni mm
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30	kein Wachstum  18,6 ± 1,1  30,4 ± 0,9  49,0 ± 3,2  87,5 ± 1,2  96,4 ± 1,8  113,9 ± 1,5  116,2 ± 2,5  92,4 ± 12,4  verunreinigt  kein Wachstum  kein Wachstum	kein Wachstum Spuren 25,2 + 1,3 62,6 ± 2,4 92,1 + 2,7 120,9 ± 4,1 164,6 ± 8,4 203.1 ± 4,4 221.1 ± 4,6 223,7 ± 2,4 216,0 ± 3,8 100 3 ± 7,4	kein Wachstum kein Wachstum Spuren 21,6 $\pm$ 0,4 28,8 $\pm$ 0,5 63,0 $\pm$ 4,1 105,3 $\pm$ 5,4 131,4 $\pm$ 5,8 126,0 $\pm$ 6,1 39,6 $\pm$ 2,2 kein Wachstum kein Wachstum
24 27	92,4 ± 12,4 verunreinigt	$\begin{array}{c} 221.1 \pm 4.6 \\ 223.7 \pm 2.4 \end{array}$	$\begin{array}{c c} 126,0 \pm 6,1 \\ 39,6 \pm 2,2 \end{array}$

Tabelle 5.

Zuwachs der Pilze auf Malzagar (Kolleschalen) in 18 Tagen

Die Schalen haben einen Durchmesser von 170 mm. Impft man ein kleines Myzelstück, möglichst in deren Mitte, so breitet sich der Pilz strahlenförmig aus und kann von der Unterseite der Schale aus gemessen werden, wenn man diese gegen das Licht hält. Die angegebenen Zahlen sind Mittelwerte aus zehn Kulturen, jeder Einzeldurchmesser ist das Mittel des größten und des kleinsten Durchmessers, weil die Kreise natürlich



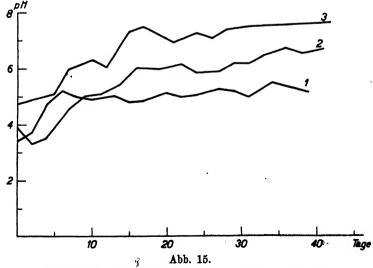
Einfluß der Temperatur auf das lineare Myzelwachstum. 1 = M. R. Aceris. 2 = M. R. Salicis. 3 = M. R. Schoeni.

nicht ganz regelmäßig sind. Da auch hier das *M. R. Aceris* am langsamsten wuchs, wurden die Werte der anderen Pilze, bei welchen der Versuch früher, nach 14 Tagen, abgebrochen werden mußte, auf eine Versuchsdauer von 18 Tagen umgerechnet. (Abb. 14.)

Übereinstimmend mit Tabelle 4 zeigt M. R. Salicis das stärkste Wachstum. Ebenso liegt das Optimum, wie bei den flüssigen Kulturen, für M. R. Aceris bei 21°C, für M. R. Salicis bei 24°C, für den dritten Pilz wieder bei 21°C, was eine kleine Verschiebung gegenüber den flüssigen Kulturen bedeutet. Auch bei dieser Art der Untersuchung ist der Schoenuspilz am meisten in seinem Wachstumsbereich beschränkt (von 9 bis 27°C), der Salixpilz am weitesten ausgedehnt (von 3 bis 33°C). Der Abfall nach dem Optimum ist bei dem Salixpilz bis 33°C flach, dann allerdings sehr plötzlich. Beim Schoenuspilz ist er schon von 24°C an sehr steil.

#### C. Änderung der H-Ionen-Reaktion durch den Pilz.

Als dritte Untersuchungsreihe der drei isolierten Pilze wurde die Beeinflussung der H-Ionen-Konzentration der Lösung durch das Wachstum der Pilze geprüft. Als Nährmedium verwendete ich wiederum Knoplösung mit Zusatz von 4  $^{\circ}/_{0}$  Rohrzucker, doch wurden die Kolben zu dieser Versuchsreihe besonders sorgfältig gereinigt: sie standen zwei Tage mit Leitungswasser gefüllt, wurden zweimal mit destilliertem Wasser gespült und, Öffnung nach unten, getrocknet. Die Kulturen standen in einem dunkeln Raum, bei  $\pm 25\,^{\circ}$  C. Ich führte die Messung der Reaktion alle zwei bis drei Tage an acht Kulturen mit der Chinhydron-Elektrode durch. Der Versuch dauerte zwei Monate. (Tabelle 6.)



Einfluß des Pilzwachstums auf die H-Ionen-Konzentration. 1 = M. R. Aceris. 2 = M. R. Salicis. 3 = M. R. Schoeni.

			Tal	belle 6.			
Veränderung	des	pН	der	Nährlösung	durch	die	Pilze.

Zahl der Messungen	1. M. R. Aceris pH	2. M. R. Salicis pH	8. M. R. Schoeni pH
frische Lösung ster. Lösung geimpft 1 2 8 4 5 6 7. 8 9 10 11 12 13 14 15 16	$\begin{array}{c} 8,75\pm0,02\\ 3,65\pm0,04\\ 3,88\pm0,08\\ 3,75\pm0,24\\ 4,80\pm0,38\\ 5,25\pm0,22\\ 5,02\pm0,33\\ 4,87\pm0,12\\ 5,05\pm0,20\\ 4,80\pm0,14\\ 4,78\pm0,12\\ 5,09\pm0,18\\ 4,96\pm0,14\\ 5,02\pm0,09\\ 5,23\pm0,21\\ 5,18\pm0,12\\ 4,98\pm0,09\\ 5,28\pm0,09\\ 5,28\pm0,09\\ \end{array}$	8,45 ± 0,06 4,81 ± 0,04 8,92 ± 0,05 8,32 ± 0,04 8,54 ± 0,09 4,61 ± 0,24 4,99 ± 0,28 5,06 ± 0,81 5,38 ± 0,22 6,00 ± 0,05 5,95 ± 0,18 6,13 ± 0,06 5,82 ± 0,06 5,87 ± 0,08 6,16 ± 0,10 6,38 ± 0,06 6,38 ± 0,06 6,38 ± 0,06 6,37 ± 0,09 6,45 ± 0,09 6,45 ± 0,09 6,71 ± 0,06	5,69 ± 0,02 5,70 ± 0,02 4,74 ± 0,01 4,95 ± 0,02 5,15 ± 0,08 6,01 ± 0,12 6,36 ± 0,04 6,03 ± 0,05 7,34 ± 0,02 7,49 ± 0,14 6,97 ± 0,04 7,24 ± 0,06 7,12 ± 0,08 7,39 ± 0,08 7,48 ± 0,05 7,48 ± 0,05 7,48 ± 0,05 7,48 ± 0,05 7,48 ± 0,06 7,57 ± 0,04 7,63 ± 0,06
18 19	$5,18 \pm 0,07 \\ 5,16 \pm 0,14$	$^{6,52}_{6,70}\pm^{0,07}_{0,08}$	_

Die Werte in Tabelle 6 und Abb. 15 zeigen bei allen Pilzen eine Verschiebung des pH gegen die alkalische Seite. In der Kurve sind die pH-Werte der ungeimpften Lösungen nicht eingetragen. Die Veranderung ist nicht gleichmäßig, sondern kleinen Schwankungen unterworfen. Bei dem Sahxpilz wird die vorher stark saure Lösung (pH 3.92). beinahe neutral (pH 6,70), beim Schoenuspilz deutlich alkalisch (pH 7,63). Der Versuch mußte hier vorzeitig abgebrochen werden, da die Werte über pH 8 hinausgingen, Messungen, die mit der Chinhydron-Elektrode nicht mehr genau ausgeführt werden können. Im Anfang wachsen die Pilze sehr rasch, nach zwei Tagen sind schon zahlreiche Myzelflocken vorhanden, nach zehn bis zwölf Tagen haben sich feste Myzeldecken gebildet, die bald dunkelbraun werden. Die anfangs wasserhellen Lösungen werden gelb und zuletzt tiefbraun. Nach zwei Monaten treten keine Veränderungen in der Azidität mehr auf. Jedenfalls sind die Nährstoffe inzwischen aufgebraucht, und das Myzel ist in seinen Stoffwechselprodukten zugrunde gegangen.

## D. Beeinflussung des Pilzwachstums durch Phosphatide.

Cranner (1922) weist nach, daß in allen Pflanzen Phosphatide enthalten sind, und daß sie in ihre Umgebung diffundieren. Melin (1924) betrachtet diese Fette, die Phosphor und Stickstoff enthalten, als ökologischen Bodenfaktor. Nachdem das Wachstum mancher Bakterien durch Wurzel-

ausscheidungen begünstigt wird, untersuchte er, ob die Phosphatide auch die Mykorrhizen beeinflußten. Er fand, daß das Myzel, direkt auf den Wurzelhals gebracht, rascher wachse als in Reinkultur. Er gewann aus den Samen und Keimlingen von Fichten und Kiefern Phosphatide und konnte durch ihren Zusatz zu den Nährlösungen das Wachstum der verschiedenen Wurzelpilze stark beschleunigen. Auch der Stoffwechsel wurde durch ihren Einfluß verändert. Dabei handelt es sich nicht um einen Nährstoff, sondern um ein Stimulans, dessen Optimum schon bei geringer Quantität erreicht wird. Melin nimmt an, daß die Sporen der Pilze nur bei Vorhandensein von Phosphatiden keimen können und wohl daher die Schwierigkeiten der Pilzsporenkeimung in Reinkultur herrühren.

Wie Winterstein (1932) ausführt (Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse), kristallisieren die Phosphatide sehr schlecht, sie sind meist schmierig, zersetzen sich leicht und sind in Äther, Benzol oder Chloroform löslich. Ihr Nachweis geschieht, nach Casanova, am einfachsten dadurch, daß man den Extrakt in einem der Lösungsmittel einengt, mit einigen Tropfen einer 10% igen Ammonmolybdatlösung versetzt und mit konzentrierter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> unterschichtet. Bei Vorhandensein von Phosphatiden bildet sich eine kirschrote Zone, die bald grüngelb und dann tiefblau wird. Eine noch empfindlichere Reaktion, die sich auch für quantitativen Nachweis eignet, ist die von Zinzadze. Der Extrakt wird auf dem Sandbad getrocknet, mit einem Salpeter-Sodagemisch verbrannt, der weiße Rückstand mit H<sub>2</sub>O und ein paar Tropfen H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aufgenommen und mit wenig β-Dinitrophenol versetzt, mit (NH<sub>4</sub>)OH bis zum Farbumschlag neutralisiert, das Reagens (Molybdänblau) zugefügt und erwärmt. Etwa vorhandenes P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> färbt die Flüssigkeit dunkelblau.

Es sollte nun untersucht werden, ob man auch aus Ahornsamen Phosphatide gewinnen könnte und ob sie das Pilzwachstum beeinflußten. Ich schälte zunächst schon seit einigen Monaten aufbewahrte Samen. Sie wurden fein gemahlen und kalt in 95 % Alkohol extrahiert. Die Lösung wurde abfiltriert, der Alkohol bei Zimmertemperatur verdunstet, der Rückstand in Chloroform gelöst, wieder filtriert und eingetrocknet. Es blieb ein dunkelgrüner, schmieriger, ziemlich fetter Rückstand. Die oben beschriebene Reaktion, nach Zinzadze, fiel negativ aus, diejenige nach Casanova zeigte deutlich einen roten Ring in der Berührungszone.

Da nur wenig Extrakt zur Verfügung stand, impfte ich zu nur zehn Kolben Pilzkultur je eine Platinöse, zu fünf Kulturen je drei Ösen voll Extrakt, zehn weitere Kontrollkolben enthielten nur Pilz. Nach 28 Tagen wurden die Kulturen filtriert, sorgfältig ausgewaschen, bei 103° getrocknet und gewogen. Die Mittelwerte der Wägungen ergaben:

```
M. R. Aceris allain . . mg 799 ± 47 (1)
```

<sup>+</sup> 1 Öse Extrakt . . . mg 763  $\pm$  53 (2) + 3 Ösen Extrakt . . . mg 1179  $\pm$  170 (3)

Dies deutet darauf hin, daß der Zusatz von drei Ösen Extrakt das Wachstum stark fördert. Das Ergebnis darf allerdings nicht als gesichert betrachtet werden, wenn man die Regel beachtet, daß  $D \ge 3 \cdot \sqrt{m_1^2 + m_2^2}$  sein soll (D = Differenz zweier Mittelwerte, m = mittlere Abweichungen).

Es ist dann D (1) (2) 36<212, und D (2) (3) 396<534.

Bei einer Wiederholung des Versuchs wurden die ganz frischen Samen entflügelt, im Thermostaten bei 60°C getrocknet, in der Holzmühle fein gemahlen und zu je 5 g in einem Filter im Soxleth mit Alkohol während vier bis fünf Tagen extrahiert. Die gelbgrüne Lösung wurde eingeengt, filtriert, der Rückstand mit Chloroform nochmals extrahiert und wieder eingeengt. Auch nach dieser Methode ergab sich ein grüner, schmieriger Rückstand, die Färbung nach Casanova erschien weniger deutlich als die des kalten Extrakts.

Pilzwachstumsversuche wurden ausgeführt mit M. R. Aceris und M. R. Salicis in Gaben von ein, drei und fünf Ösen in je zehn Parallelversuchen. Die Kulturen standen 14 Tage im Dunkel bei  $\pm$  20  $^{\circ}$  (C. (Tabelle 7.)

Tabelle 7.
Pilzwachstum bei Anwesenheit von Phosphatid-Extrakt.

				M. R. Aceris	M. R Salicis
				mg	mg
Kontrolle		:	:	$ \begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$286 \pm 22$ $177 \pm 6$ $189 \pm 5$ $185 + 6$

Bei diesem Versuch werden also die Kulturen des Acerpilzes nicht beeinflußt, die Differenzen sind sehr klein, innerhalb der Fehlergrenze liegend, schwankend, während der Salixpilz durch den Zusatz von Extrakt ausgesprochen geschädigt wurde. Der Unterschied zeigte sich schon nach wenigen Tagen, in den Kontrollkulturen bildete sich bereits eine dichte, sich bräunende Myzeldecke, während die andern einen feinen weißen, fast glasigen Pilz enthielten. Ob die Reste des Chloroforms oder der Extrakt selbst so giftig wirkten, konnte ich nicht feststellen. Auf jeden Fall scheint die kalte Extraktion günstiger zu sein als die im Soxleth; doch dauert sie sehr lange, wenn man größere Mengen Extrakt braucht.

#### E. Die Stickstoffversorgung der Pilze.

Bei allen Fragen nach der Bedeutung der Wurzelpilze taucht immer wieder das Problem der Stickstoffversorgung auf. Nämlich: sind die Wurzeln der Gefäßpflanzen befähigt, die im Humus enthaltenen komplizierten Eiweißverbindungen abzubauen? Enthält der Boden, vor allem der Rohhumusboden, genügend Nitrate für die N-Versorgung der hier lebenden Pflanzen? Ist die Hyphenverdauung unbedingt notwendig zur

N-Beschaffung oder bedeutet sie nur eine Abwehrmaßnahme gegen den eindringenden Parasiten und dient nicht zur eigentlichen Ernährung? Ferner legt die Ähnlichkeit zwischen den Mykorrhizen und den Wurzelbakterien der Leguminosen, sowie den Knötchen von Alnus und Elaeagnus die Frage nahe, ob auch die Wurzelpilze die Fähigkeit besitzen, Luft-N zu assimilieren. Es existieren hierüber eine ganze Reihe sich stark widersprechender Arbeiten. Aber auch bei den Autoren, die einen Gewinn von Luft-N in ihren Versuchen feststellten, handelt es sich um derartig kleine Mengen, daß diese ebensogut aus den verschiedenen Fehlerquellen herstammen können.

Assimilation von Luft-Stickstoff bei verschiedenen Pilzen stellten fest: Ternetz (1907) bei Wurzelpilzen von Ericaceen; z.B. gewinnt die Autorin 2,8 mg N auf 75 mg Myzeltrockengewicht, ein anderes Mal 15,8 mg N auf 87 mg Myzel, und zwar ist jeweils mehr N in der Lösung enthalten als im Myzel.

Ferner Schober (1930) für Aspergillus, aber nur in Fällen, in denen eine leicht oxydierbare Kohlenstoffquelle zur Verfügung stand. Er erhielt in 48 Tagen 180 mg Myzel mit 4 mg N-Gewinn. Wolff (1933) erzielte bei Wurzelpilzen von Orchideen einen N-Gewinn von 0,24 bis 0,84 mg je Kultur. Eine Ablehnung der Luft-N-Bindung finden wir bei Melin (1925), der es wichtig findet, daß die Pilze Stickstoff in ihnen zusagender Form bekommen, nämlich NH<sub>4</sub>-Salze, Harnstoff, Nukleïnsäure, während Salpeter bei mehr als 0,1% giftig wirkt. Auch Schröder (1932) mit Aspergillus niger, Holländer (1932) mit Orchideenpilzen und Francke (1934) mit Monotropa-Mykorrhiza konnten bei keinem der von ihnen untersuchten Pilze einen Gewinn von Luft-N feststellen, da die gefundenen Werte viel zu gering waren, um für Pilz oder Pflanze irgendwelche Bedeutung zu haben.

### a) Kultur in stickstoffhaltiger Lösung.

Um das Material zur Stickstoffrage zu erweitern, machte ich mit den Pilzen M. R. Aceris und M. R. Salicis eine Reihe von Analysen über die Verwendung verschiedener Stickstoffquellen. Der Versuch wurde mit fünf Lösungen durchgeführt (S. 482); ich bestimmte das Myzeltrockengewicht, den N-Gehalt der ungeimpften, den der geimpften Lösung sowie den des Myzels und berechnete das Verhältnis des Myzel-N zum Gesamt-N in Prozenten (Tabelle 8).

Zum Aufschließen gebrauchte ich das Gemisch: 10 g  $K_2SO_4$ , 1 g  $CuSO_4$  krist., 0,75 g  $Hg_2(SO_4)_3$ , 20 ccm  $H_2SO_4$  konz. Als Vorlage diente 1/10 n  $H_2SO_4$ , zurücktitriert mit 1/10 n NaOH, als Indikator bei einem Teil der Analysen Methylorange, später verwendete ich auf Empfehlung von Dr. Pallmann den Indikator von Kolthoff (Methylenblau  $0.1^{-6}/_0$ ,

Methylrot 0,2%, Alkohol absol., Umschlagspunkt bei pH 5,4), der empfindlicher und deutlicher ist.

Die Kulturen standen im Dunkeln bei  $\pm 22\,^{\circ}$  C. Die Kolben wurden vor Gebrauch sorgfältig gereinigt, wie es bei dem pH-Versuch bereits beschrieben ist. Die verwendeten Salze waren alle "reinst, pro analysi" und wurden noch qualitativ auf das Vorhandensein von N geprüft. (Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse.)

Die Untersuchungen führte ich mit folgenden Nährlösungen durch:

				_					_					_	
1.	KH, PO, .			1,0	g									1,0	
	CaCl			1,0	g					(NH	4)H, F	04		2,0	g
	MgSO4													1,0	
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .													0,5	
	FeSO <sub>4</sub>													Spur	
	Glukose .			10,0	g					(Ilul	cose			10,0	g
	H <sub>2</sub> O													1000,0	
3	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .			1,0	g				4.	KH.	P0.			1,0	Q.
	CaCl,										l <sub>2</sub> .				
															-
	MgSO <sub>4</sub>													0,5	
	Asparagin	•	•	0,25	g					NH,	CI.	•	•	1,0	g
	FeSO <sub>4</sub>			Spur						FeS	04.			Spur	
	Glukose .			10,0	g					Glu	kose			10,0	g
	H <sub>2</sub> O				-									1000,0	
	•			•	•					•				,	•
				5. K	H, PO4				2	.0 g					
					aCl.										
					IgSO <sub>4</sub> .										
					$\mathbf{H_4Cl}$ .										
				F	`eSO₄.				Spur						
					lukose										
					1,0 .										
				L	.,	•	•	•	1000	,					

Tabelle 8.
Analysen der Pilzkulturen in N-baltiger Lösung.

Nährlösung Nummer	Pilz	Ver- suchs- dauer	Myzel- trocken- gewicht		N-Analyse ungeimpft		N-Gehalt- Myzel	Myzel-N Gesamt-N
22		Tage	mg	mg	mg	mg	mg	%
1 2 8 4 5	M. R. Aceris M. R. Aceris M. R. Salicis M. R. Salicis M. R. Salicis	80 28 20 28 28	221 215 800 270 307	21,20 24,43 5,81 26,19 52,88	20,96 24,85 5,08 26,85 51,52	20,39 23,37 5,24 25,21 50,58	15,62 14,08 4,77 18,37 17,80	74,68 60,03 98,89 50,74 34,55

Die Mittelwerte der Analysen sind zusammengestellt in Tabelle 8. Als N-Quellen dienten Ammonsalze sowie Asparagin. Von den Ammonverbindungen wurde das Sulfat am besten, das Chlorid am schlechtesten aufgenommen. Auffallend ist der Unterschied zwischen Lösung 4 und 5.

Es wurde mehr Myzel gebildet, da mehr Kohlehydrat geboten wurde. Die Steigerung des  $NH_4Cl$  von 1 auf 2 g war aber wirkungslos, im Gegenteil, nur  $34\,^{\circ}/_{\circ}$  des gebotenen N wurde ins Myzel aufgenommen, gegenüber  $50\,^{\circ}/_{\circ}$  bei geringerem N-Gehalt. Weitaus am besten wurde das in geringer Menge beigefügte Asparagin absorbiert, nämlich fast  $94\,^{\circ}/_{\circ}$ . Größere Asparaginmengen wurden nicht so vollkommen aufgebraucht, bei einem weiteren Versuch mit 1 g Asparagin in 1 l Lösung als N-Quelle wurden nur  $65,5\,^{\circ}/_{\circ}$  des vorhandenen N im Myzel gefunden.

Die Myzelbildung war aber in allen Lösungen ziemlich gleichmäßig, deutlich auch hier wieder das viel langsamere Wachstum des Acerpilzes, der in längerer Zeit bedeutend weniger Myzel bildete als der Salizpilz.

Der Zuckerverbrauch wurde nicht gemessen, doch war bei Abbruch des Versuchs der gebotene Zucker noch nicht verbraucht, was sich durch die starke Verkohlung und das lebhafte Aufschäumen während des Aufschließens zeigte.

#### b) Kultur in N-freier Lösung.

Um auch die Frage der Aufnahme von Luft-Stickstoff zu prufen, wurde eine Anzahl Kulturen in N-freier Lösung angelegt.

Nährlösung:	KH,PO.	1,0 g	Rohrzucker	40,0 g
	CaCl <sub>2</sub>	1,0 g	FeSO <sub>4</sub> , NaCl	Spur
	MgSO <sub>4</sub>	0,5 g	H <sub>2</sub> O	1000,0 g

Die Kolben wurden für diesen Versuch erst während vier Tagen mit Leitungswasser, dann ebensolange mit destilliertem Wasser gefüllt. Für die Nährlösung wurde das übliche destillierte Wasser des Instituts nochmals mit einem Zusatz von KMnO<sub>4</sub> destilliert. Die Chemikalien wurden, wie im vorigen Abschnitt, auf ihren N-Gehalt geprüft.

Die Versuche machte ich mit:

- 10 Kolben ohne Pilz, zur Kontrolle.
- 10 Kolben M. R. Acers.
- 10 Kolben M. R. Salicis.
- 5 Kolben M R. Aceris + 0,1 g (NH<sub>4</sub>)NO<sub>8</sub>
- 5 Kolben M R Salicis + 0,1 g (NH<sub>4</sub>)NO<sub>8</sub>.

Ein Teil der Kulturen wurde, nur mit Watteverschluß, im Kulturraum ( $\pm$  22 °C) aufgestellt, der Rest im selben Raum zur Durchlüftung an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen. Die Luft passierte zuerst eine Waschflasche mit  $\rm H_2SO_4$ , dann zwei Flaschen mit sterilisiertem  $\rm H_2O$ . Hierauf folgten die Kulturkolben, deren Gummizapfen und Glasröhrchen erst ausgekocht und dann in einem Besteckkasten im Dampftopf sterilisiert worden waren.

Die gewöhnlichen und die durchlüfteten Kulturen wuchsen zu braunen Pilzklümpchen heran im Gewicht von 20 bis 32 mg. Zu beachten ist, daß bei Myzelimpfung immer kleine Agarstücke mitgeimpft werden; diese mögen als N-Quelle für solch kleine Pilzmengen vollkommen genügen,

wenn man bedenkt, daß im Versuch 3 in N-haltiger Lösung (Tabelle 8) 0,25 g Asparagin (5,3 mg N in 100 ccm Lösung) in 20 Tagen 300 mg Myzel ergaben.

Die Kolben mit dem Zusatz von Ammonnitrat zeigten schon nach einer Woche eine zusammenhängende Pilzdecke. Nach 43 Tagen betrug das Trockengewicht bei M. R. Salicis 1212 mg, bei M. R. Aceris 696 mg, doch waren beide Myzelien offenbar schon seit einiger Zeit abgestorben.

Diese Kulturen wurden mit Phenolschwefelsäure und Natriumthiosulfatlösung aufgeschlossen (Wiegner, 1926), die Titration wie auf Seite 481 beschrieben durchgeführt. Ich bestimmte wieder das Trockengewicht des Myzels, den N-Gehalt von Lösung + Myzel, vom Myzel allein und das Verhältnis N-Gehalt Myzel: Gesamt-N in Prozent (Tabelle 9).

Der Versuch dauerte 43 Tage bei  $\pm 22^{\circ}$  C.

M. R. Salicis + 35 mg N M. R. Aceris + 35 mg N

Trocken-N-Gehalt N-Gehalt N-Mvzel Art der Kultur Lös.+Myzel gewicht Myzel Gesamt-N % mg mg mg Kontrolle. (0.677)M. R. Salicis 42.7 24.8 0.513 0.21932.5 0.896 0.192 21.4 20,0 0,589 0,029 5,3

1212.1

696,1

33,879

34,530

93.3

83,2

31.650

28,720

Tabelle 9. Stickstoffanalysen von Pilzkulturen.

Die Analysen wurden mit der gewöhnlichen Kjeldahlmethode durchgeführt, die für so wenig Substanz zu grob ist, daher ist auch die (eingeklammerte) Zahl für die Kontrollösung zu hoch. Die dargestellten Werte zeigen aber trotzdem, daß es sich schwerlich um gebundenen Luftstickstoff handeln kann, sondern, daß für die Bildung von so geringen Myzelmengen der in Agar und Glas stets enthaltene Stickstoff genügt. Auch die Durchlüftung der Kulturen (ein bis zwei Luftblase je Sekunde) übte auf die Menge des gebildeten Myzels keinen Einfluß aus, und auch der Stickstoffverbrauch erhöhte sich nicht.

Das Ergebnis erscheint, besonders mit den Werten der N-haltigen Kulturen verglichen, so eindeutig, daß weitere Analysen mit Mikrokjeldahl nicht mehr ausgeführt wurden.

### V. Zusammenfassung.

- 1. Wasserwurzeln (Stecklinge) von Salix repens verpilzen nur oberflächlich.
- 2. Die Samen von Salix repens keimen rasch, die weitere Entwicklung der Keimlinge geht aber sehr langsam vor sich. Sie sind daher für Syntheseversuche ungeeignet.

- 3. Die Wurzeln von Schoenus ferrugineus zeigen zwischen normalen Wurzeln verdickte Säckchen, die Myzel enthalten und sich in ihrem Bau als echte Tumore erweisen. Die Samen keimen spärlich, es konnte nur ein Keimling erzielt werden.
- A: Die Samen verschiedener Ahorn-Arten keimen gut nach längerer Ruhezeit in der Kälte. Zu umfassenderen Versuchen eignet sich am besten Acer pseudoplatanus, obwohl auch hier ein großer Teil der Samen nicht keimfähig ist. Kulturen in differenzierten Nährlösungen zeigen starke Beeinflussung des Wachstums durch verschiedene Nährsalze. In flüssiger Kultur wurde keine Infektion durch Wurzelpilze erzielt. Bei einer solchen in sterilisierter Erde enthielten fünf von sieben Versuchspflanzen Pilzhyphen in Handschnitten. Aus oberflächlich sterilisierten Wurzelstücken konnte der Pilz nicht zurückgewonnen werden.
  - 5. Die Pilze wurden aus kleinen Wurzelstücken der Versuchspflanzen durch Auslegen auf Malzagar gewonnen. Sie konnten nicht bestimmt werden und wurden deshalb Mycelium Radicis genannt. Sie sind im Habitus sehr ähnlich, weichen aber im mikroskopischen Bild und in den Temperaturansprüchen voneinander ab. Die Temperatur-Optima liegen bei 21 und 24°C, M. R. Aceris wächst am langsamsten, M. R. Salicis doppelt so schnell. Die Kurve von M. R. Schoeni ist am steilsten, dieser Pilz ist am empfindlichsten gegenüber hohen und tiefen Temperaturen. Bei allen drei Stämmen wird während des Wachstums die H-Ionen-Konzentration der Nährlösung gegen die alkalische Seite hin verschoben, nach etwa zwei Monaten ist diese (100 ccm Knop + 4°/0 Rohrzucker) aufgebraucht.
  - 6. Bei der Untersuchung über die Einwirkung der Phosphatide auf das Pilzwachstum beeinflußten kalt hergestellte Extrakte im günstigen Sinn, heiß im Soxleth extrahierte Stoffe ließen den Acerpilz unbeeinflußt und schädigten den Salixpilz. Das Vorhandensein von Phosphatiden konnte nicht einwandfrei nachgewiesen werden.
  - 7. Pilzkulturen in flüssiger Nährlösung mit verschiedenen Ammonverbindungen und Asparagin als N-Quelle ergaben, daß diese Salze nicht gleich gut ausgenützt werden. Kulturen in N-freier Lösung lieferten so wenig Myzel annähernd gleichviel mit und ohne Durchlüftung —, daß eine Assimilation von Luft-N unwahrscheinlich ist.

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Versuche ziehe ich folgende Schlüsse:

In der Rindenschicht von Acer pseudoplatanus und Acer platanoides, in den Epidermiszellen von Salix und den besonderen Pilzsäcken von Schoenus ferrugineus finden sich regelmäßig Pilzhyphen. Schwächere Pflanzen,

z. B. Wasserkulturen, werden durch den Pilz zum Absterben gebracht. Kräftige, in Erde wurzelnde Pflanzen weisen bei einjähriger Kulturdauer keine Differenz zwischen verpilzten und unverpilzten Formen auf. Der Pilz ist zur Keimung des Samens nicht notwendig. Diese Ergebnisse sprechen für die Theorie, daß es sich bei der Erscheinung der Wurzelpilze in den untersuchten Fällen um einen unter Umständen tragbaren Parasitismus handle.

#### Literaturverzeichnis.

Bernard, Noel, 1909. L'Evolution dans la Symbiose. Ann. d. Sciences Nat., 9.

Burgeff, H., 1931. Über Saprophytismus und Symbiose. Jena.

Büsgen, M., 1927. Bau und Leben unserer Waldbäume. Jena. 383ff.

Cranner, H., 1922. Zur Biochemie und Physiologie der Grenzschichten lebender Pflanzenzellen. Meld. Norges Landbrukshoiskele.

Demeter, K., 1923. Über "Plasmoptysen"-Mykorrhiza. Flora, 16.

Dougall, Mc., 1914. On the Mycorrhizas of Forest Trees. Americ. Journ. of Botany.

Fischer, E. und Gaumann, E., 1929. Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze. Jena.

Francke, H. L., 1934. Beiträge zur Kenntnis der Mykorrhiza von *Monotropa hypopytis* L. Flora, 29.

Frank, B., 1885. Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernahrung gewisser Baume durch unterirdische Pilze. Berichte der Deutschen Botan. Gesellschaft, 3, 128.

Frank, B., 1885. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 3, 6, 9, 10.

Freisleben, R., 1934. Zur Frage der Mykotrophie in der Gattung Vaccinium L. Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik, 80.

Fuchs, A. und Ziegenspeck, H., 1925. Bau und Form der Wurzeln der einheimischen Orchideen in Hinblick auf ihre Aufgaben. Botanisches Archiv. 12.

Fuchs, J., 1911 Über die Beziehung von Agariceen und andern humusbewohnenden Pilzen zur Mykorrhizabildung der Waldbäume. Bibl. Botanica, 76.

Großmann, H., 1984. Über die Welkewirkung des Flachses. Phytop. Zeitschrift, 7.

Hesselmann, H., 1927. Studien über die Entwicklung der Nadelbaumpflanzen in Rohhumus. Med. frøn Statens Skogsförsökanstalt, 23.

Holländer, S., 1932. Ernährungsphysiologische Untersuchungen an Wurzelpilzen saprophytisch lebender Orchideen. Würzburg.

Jaccard, P. Mycorrhices endotrophes chez Aesculus Hippocastanum et Pavia et leur signification. Proc. verb. Soc. vaud de natur, avril 1911, p. I—II.

Jahn, E., 1984. Die peritrophe Mykorrhiza. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 52.

Kienitz-Gerloff, 1908. Über die Symbiose von Pflanzenwurzeln mit Pilzen. Nat. Wochenschrift. 19.

Kinzel, W., 1913. Frost und Licht als beeinflussende Kräfte der Samenkeimung. Stuttgart. Klein, 1932. Handbuch der Pflanzenanalyse I.

Klein, G. und Kisser, J., 1924. Die sterile Kultur der höheren Pflanzen. Botanische Abhandlungen, 2.

Kotte, W., 1924. Methoden zur Bestimmung der Aufnahme organischer Stoffe durch die höhere Pflanze. Handbuch biol. Arb. meth.

Masui, K., 1928. A study of the ectotrophic mycorrhiza of woody plants. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ.

Melin, Elias, 1921. Mykorrhizenpilze von Pinus silvestris und Picca abies. Svensk Bot. Tidskrift, 15.

- Melin, Elias, 1922. Untersuchungen über die Larix-Mykorrhiza und Synthese der Mykorrhiza in Reinkultur. Svensk Bot. Tidskrift, 16.
- Melin, Elias, 1928. Experimentelle Untersuchungen über die Birken- und Espenmykorrhiza und ihre Pilzsymbiose. Svensk Bot. Tidskrift, 17.
- Melin, Elias, 1924. Die Phosphatide als ökologischer Faktor im Boden. Svensk Bot. Tidskrift, 18.
- Melin, Elias, 1924. Über den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Virulenz der Wurzelpilze von Fichte und Kiefer. Botaniska Notiser.
- Melin, Elias, 1924. Zur Kenntnis der Mykorrhizenpilze von Pinus montana. Botaniska Notiser.
- Melin, Elias, 1925 Untersuchungen über die Bedeutung der Baummykorrhiza. Jena. Melin, Elias, 1931. Die Mykorrhiza der Waldbäume und ihre Bedeutung. Boschlouw Tijdschrift. 4.
- Möller, A., 1902 und 1903. Über die Wurzelbildung der ein- bis zweijährigen Kiefer im markischen Sandboden. Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen, 34 und 35.
- Neumann, G., 1934. Über die Mykorrhiza in der Gattung Gentiana. Zentralblatt für Bakteriologie, 89, S. 438.
- v. d. Pijl, L., 1934. Mykorrhiza von Burmannia und Epirhizanthes und die Fortpflanzung ihres Endophyten. Rec. Trav. Bot Néerlandais. 31.
- Rayner, M. C., 1927. Mycorrhiza. New Phytol. Reprint., 15.
- Rayner, M. C., 1929 The Biology of Fungus Infection in the Genus Vaccinium. Ann. of Bot, 43.
- Rayner, M. C., 1929. The multiple Mycorrh. of Trees. Forestry, Journ. Soc. Forest. Gr. B., 3.
- Rexhausen, L., 1925. Über die Bedeutung der ektotrophen Mykorrhiza für die höheren Pflanzen Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 14.
- Rippel, A., 1981. Niedere Pflanzen. Handbuch der Bodenlehre, 7.
- Roberg, M, 1934. Über den Erreger der Wurzelknöllchen von Alnus und den Elaeagnaceen Elaeagnus und Hippophaé. Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik, 79.
- Sarauw, G., 1993. Sur les Mycorrh. des arbres forest. et sur le sens de la symbiose des racines. Revue mycol.
- Schlicht, A., 1888. Über neue Fälle von Symbiose der Pflanzenwurzeln mit Pilzen. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 6.
- Schober, R., 1930. Luftstickstoffassimilation und Säurebildung bei Aspergillus niger.

  Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik, 72.
- Schröder, M., 1932. Zur Frage der Assimilation des Luftstickstoffs durch Asperyellus niger. Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik, 75.
- Schröder, M., 1982. Die Assimilation des Luftstickstoffs durch einige Bakterien. Zentralblatt für Bakteriologie, 85, Abt. II.
- Stahl, E., 1900. Über den Sinn der Mykorrhizenbildung. Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik, 84.
- Ternetz, Ch., 1907. Über die Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch die Pilze. Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik, 44.
- v. Tubeuf, C., 1903. Zur Kenntnis des Pfeisengrases (Molinia coerulea). Nat.-wiss. Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft, 1, Heft 6.
- Wiegner, 1926. Anleitung zum quantitativen agrikulturchemischen Praktikum. Berlin.
- Winterstein, H. E., 1982. Phosphatide. Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse, S. 677, 1.
- Wolff, H., 1983. Zur Assimilation atmosphärischen Stickstoffs. Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik, 77.
- Woronin, M., 1885. Über die Pilzwurzel von B. Frank. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 3.

## Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.

Direktor: Professor Dr. E. Gäumann.

## Studies on the Cultural Behaviour and Pathogenicity of a strain of Valsa.

Bv

W. F. Steven.

With 5 Fig. and 1 Plate.

#### A. Introduction.

#### (a) Source and relationships of the fungus.

The original isolation was made from a plant of Sorbus chamaemesnilus by Dr. G. Défago, who placed it in the subgenus Leucostoma and noted its resemblance to Valsa nivea Pers. and Valsa Persoonii Nitschke. The plate shows a photograph of a 15 days old culture of the fungus on agar, together with similar cultures of Valsa nivea Pers., two strains of Valsa Persoonii Nitschke, and one of Valsa cincta Curr. The strain from Sorbus is a subculture of a single spore isolation obtained as described below, and the others are subcultures from cherry agar slants obtained from the Bureau voor Schimmelcultures, Baarn. It will be seen that the cultures of Valsa cincta and Valsa Persoonii from Prunus Mahaleb have formed much surface mycelium in which pycnidia are beginning to form and that the new strain most closely resembles Valsa nivea in the size and distribution of its pycnidia, but agrees with Valsa Persoonii from Prunus Persica in producing very little surface mycelium. The means of fifty spore measurements for each of three fungi Valsa nivea, Valsa Persoonii from Prunus Persica and the new strain are given with their standard

deviations (s =  $\sqrt{\frac{\sum a^2}{n-1}}$ , and it will be seen that they differ considerably

both in the mean values and in variability. The measurements were made with a micrometer eyepiece on spores taken from oatmeal agar cultures of equal ages and mounted in lactophenol. It is recognised that a more extensive study of spore size and variability from pycnidium to pycnidium in the same culture should have been made before attaching any significance to these figures, but the differences are so large that they may at least be regarded as suggestive of the fact that the new strain is not identical with either of the other two fungi.

#### (b) Objects of the investigation.

Since a study of the variation in the growth rate of the other species of Valsa (Leucostoma) with temperature had already been made by Dr. Défago (work unpublished) it was decided to repeat his experiments with the new strain under as nearly similar conditions as possible, and so to obtain at least an indirect comparison. Quantitative studies have also been made of the variation in growth rate in liquid medium with the pH of the medium, and of the change of pH produced in the medium, and its variation both with temperature and with the initial pH of the medium. Qualitative studies were made of the effect of the relative humidity of the air on the production of pycnidia and spores in agar cultures, and the pathogenicity of the new strain has been compared with that of the other fungi mentioned by means of parallel inoculations on plants of Sorbus spp.

#### (c) Isolation and general behaviour in culture.

A single spore culture was first obtained from an old culture suspected to be impure by means of the micromanipulator, a method which proved laborious owing to the small size of the spores. Subcultures of this isolation were used in the above described and all subsequent studies. Cultures on oatmeal agar (60 grms oatmeal 20 grms agar per litre) in Petri dishes in a dry atmosphere and at a room temperature of 18° C showed rapid linear spread, the mycelium reaching the edge of the dish after 10 days, and producing numerous pycnidia, which after 30 days were distributed irregularly all over the dish and showed great variability in size and stage of development, some of the larger ones producing spores which exuded in dark brown masses. During the formation of pycnidia the amount of surface mycelium remained very slight, and only increased after their formation had ceased. On malt and potato agars the pycnidia were not so numerous or so well developed, and more surface mycelium was formed. No signs of perithecia have been observed in these cultures up to an age of 4 to 5 months, though an oatmeal agar containing 20 grms of glucose was also used as recommended by Leonian to induce their formation. Cultures on sterilised twigs of Sorbus domestica, Sorbus aria, and Sorbus aucuparia have also shown no signs of perithecia.

### B. Temperature Relations.

- I. Variation of growth rate with temperature as measured by:
  - (I) Dry weight of mycelium produced in a given time in liquid medium.

. Methods. The medium used in this and a subsequent experiment with liquid cultures was a modification of Leonian's medium used by Dr. Défago. It contained KH<sub>1</sub>PO<sub>4</sub> 1.25 grms, MgSO<sub>4</sub> 0.625 grms, Peptone 0.625 grms,

malt extract 6.25 grms and glucose 20 grms per litre of water. Enough of the solids for 12 litres was first dissolved and made up to 2 litres, and left in the steam oven in an Erlenmeyer flask for two hours, by which time a precipitate had formed. This was filtered off, and the filtrate made up to the full 12 litres, which was measured out in quantities of 100 c.c. into 120 four hundred c.c. Erlenmeyer flasks.

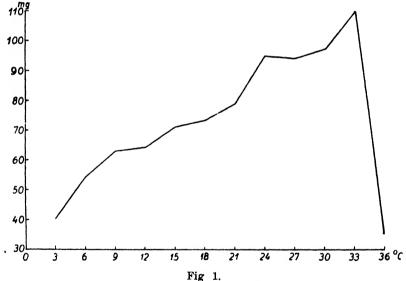
The flasks were then plugged and sterilised in the autoclave at 120°C for 20 minutes, no further precipitate appearing in the medium. Inoculation was performed on Jan. 10th with a spore suspension prepared by pouring sterile water into some old cultures on oatmeal agar in an inoculation chamber previously disinfected by evaporating formaldehyde. The presence of numerous spores in a single drop of the suspension was first ascertained under the microscope, and four drops of the suspension were added to each flask with a sterilised pipette. lated flasks were left at room temperature overnight before being introduced into the thermostats, so that the conditions for the germination of the spores were the same in all the flasks during the first twelve hours. On Jan. 24th and 25th the flasks were removed in two batches from the thermostats (5 from each thermostat in each batch) and the contents were filtered through filter papers which had previously been dried at 103°C (in open weighing glasses) for four hours, allowed to cool in a dessicator (with the glasses closed) and weighed. A small quantity (circ. 5 c.c.) of the filtrate was collected from each filter funnel into test tubes in which distilled water had been allowed to stand for twenty. four hours previously, for the purpose of pH determinations (see below) The filter papers and mycelial residue were washed ten times with boiling distilled water, allowed to dry, left in a thermostat at 103° C for four hours, cooled, and weighed as before.

Table I.

Temperature	mg Dry Wt mycelium	D	mD	D mD	No. of days taken to reach 4 cm diam. on solid medium
8 6 9 12 15 18 21 24 27 80 88 88	40.1 ± 2.4 54.8 ± 4.1 62.9 ± 2.8 64.2 ± 3.3 71.2 ± 2.2 78.5 ± 7.5 78.6 ± 3.2 94.5 ± 4.8 94.2 ± 4.5 96.9 ± 11.1 109.9 ± 8.7 85.0 ± 2.7	14.7 8.1 1.3 7.0 2.8 5.1 15.9 0.3 2.7 18.0 74.9	4.7 5.0 4.3 4.0 7.8 8.1 5.7 6.6 12.0 11.7 4.6	8 1 1.6 0.8 1 75 0.3 0 68 2.8 - 0.2 1.1 16.8	17.0 9.2 6.0 3.8 3.0 2.6 2.4 2.2 1.7 1.8 8.0

Results.

Table I gives the figures obtained for the number of milligrams dry weight of mycelium produced at the different temperatures, each figure being the mean of ten readings and being followed by its standard error,  $m = \sqrt{\frac{\sum a^2}{n \ (n-1)}}$ . For each pair of consecutive readings D — the difference, and  $mD = \sqrt{m_1^2 + m_2^2}$  are also given, and  $\frac{D}{MD} > 3$  is taken as the condition which must be fulfilled before a difference can be regarded as significant. It will be seen that this is only realised between the first two and the last two readings, and even if temperature intervals of 6°C are taken (1),  $\frac{D}{mD}$  is seldom found to exceed 3. This result does not allow much significance to be attached to the exact form of the curve given in Fig. 1, and may be attributed more to the smallness of the diffe-



Variation in dry weight of mycelium produced in fourteen days in liquid culture with temperature.

rences in the growth of the fungus at successive temperatures than to the size of the errors, which are not abnormally large. It is possible that these differences could have been increased by leaving the cultures for a longer time in the thermostats, or by transferring them thereto more promptly after inoculation. The differences between the dry weight of mycelium produced by this fungus, and that produced by

<sup>(1)</sup> The temperatures of the thermostats in this and the other experiments varied within limits of 0.2 ° C on either side of the values given in the tables and figures.

the species investigated by Dr. Défago (Valsa cincta, Valsa nivea, Valsa Persoonii) is so great (X 10 approximately) as to warrant the conclusion that it is physiologically quite distinct from any of them, even allowing for possible discrepancies in the exact experimental procedure.

## (II) Rate of linear spread on solid medium.

#### (a) Choice of medium.

This was attended with some difficulty. Preliminary trials with Petri dishes showed that growth on malt agar was too loose and irregular at the higher temperatures to permit of satisfactory measurement, though this may have been due to the quicker drying out of the medium at those temperatures. Oatmeal agar contained too large a solid deposit. Potato agar was rejected because of the labour required to make up large enough quantity. Finally a medium similar to that described in the foregoing experiment was used substituting 26 grms of barley meal for the malt extract and adding 20 grms of agar per litre.

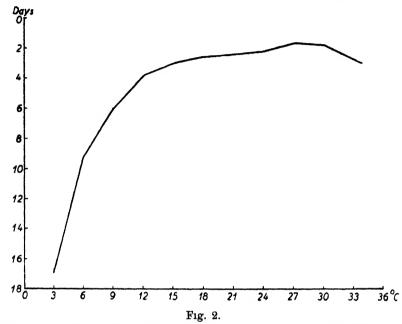
#### (b) Procedure.

Eighteen litres of the medium were made up and poured out in quantities of 150 c.c. into each of 120 Kolle flasks. These were plugged with cotton wool and sterilised in the autoclave at 120°C for 20 mins. some empty flasks being placed at the bottom to prevent the sucking in of water by the lowermost ones. On Jan. 8th they were inoculated in a previously disinfected inoculation chamber from cultures on malt agar and introduced into the thermostats. The measurements were taken every 2 to 3 days and had to be made from above owing to the invisibility of the thin transparent layer of mycelium through the agar. The figure taken for each diameter was the mean of two readings at right angles, and from the mean of eight readings (see below) at each temperature curves were drawn showing the rate of increase in diameter at each temperature.

#### (c) Results.

In Fig. 2 the length of time taken to reach a diameter of 4 cm is plotted against the temperature. This method of representation of the growth rate (see Tanja) was chosen in preference to the diameter reached in a given time, since the growth rates never remained uniform, and those at the lowest temperatures were so slow that a simultaneous comparison was hardly possible. Five extra cultures kept in a thermostat at an average temperature of 0.8°C took 28 days to reach a diameter of 4 cm. Twenty four cultures (2 for each thermostat) were left overnight at room temperature between inoculation and transference to the thermostats, and as the fungus grew very much faster in these cultures at the lower temperatures than it did in the others, they were excluded

from the subsequent calculations. No growth was observed at 36°C, but on removal of the cultures at this temperature after 30 days the fungus grew out and produced normal pycnidia at a room temperature of 18°C.



Variation in number of days taken to reach a diameter of four centimetres on solid medium with temperature.

# II. Effect of temperature on general cultural characters and on the formation of pycnidia and spores.

After 9 days at 27°C the close mycelial mat in the surface of the agar had turned a deep black, and the sunken rudiments of pycnidia could be seen. These changes were progressively less rapid at the lower temperatures, and at 6°C had only just started after 60 days. At 30°C the blackening was patchy, and the pycnidia sparse, and at 33°C the surface mycelium formed a raised white mass which took on a brown sodden appearance towards the centre, suggesting the occurrence of breakdown changes. After 40 days abundant spores were being exuded from numerous small pycnidia at 24°C, and a few large compound pycnidia had formed. The formation of pycnidia and spores was less profuse at 27°C, and at 21°C many of the numerous small pycnidia remained sterile, a few producing spores after 67 days. At 15 and 18°C larger pycnidia were formed in smaller numbers, and sections showed the presence of young spores producing tissue after 60 days. It is interesting to compare these results with those of the humidity experiment described below, although different media were used. The very slow formation of spores at 15 and 8°C

may perhaps be explained by the high humidities which prevailed in all the cultures throughout the experiment (see below), though this did not prevent their fairly rapid appearance at higher temperatures.

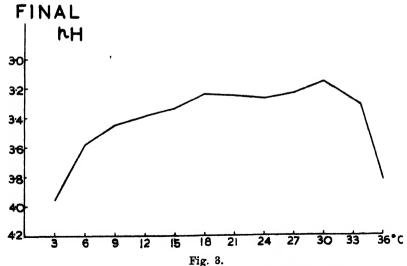
Temperature °C	Final pH	Change of pH	D	mD	$\frac{D}{mD}$
8 6 9 12 15 18 21 24 27 30 38 86	$\begin{array}{c} 8.96 \pm 0.0003 \\ 3.58 \pm 0.008 \\ 3.45 \pm 0.01 \\ 3.39 \pm 0.04 \\ 3.34 \pm 0.03 \\ 3.24 \pm 0.01 \\ 3.25 \pm 0.05 \\ 3.27 \pm 0.08 \\ 3.23 \pm 0.02 \\ 3.15 \pm 0.05 \\ 3.31 \pm 0.01 \\ 3.83 \pm 0.09 \end{array}$	0.24 0.62 0.75 0.81 0.86 0-96 0.95 0.93 0.97 1.05 0.89 0.37	$\begin{array}{c} -0.38 \\ -0.013 \\ -0.06 \\ -0.05 \\ -0.10 \\ +0.01 \\ +0.02 \\ -0.04 \\ -0.08 \\ +0.16 \\ +0.52 \end{array}$	0.008 0.009 0.041 0.050 0.082 0.05 0.05	47.5 14.4 1.5 1.0 3.1 1.8

Table II.

#### C. pH Relations.

I. Change of pH brought about by the fungus, by its growth in liquid medium and its variation with temperature.

The initial pH of the medium used in the experiment described under B. 1. was determined by the quinhydrone electrode method, using a small surplus quantity of the medium after sterilisation. The withdrawal of a small quantity of medium from each flask at the time of inoculation for this purpose would have given a more accurate figure, but would also have introduced an error into the experiment, the main purpose of which was



Variation in change of pH of liquid culture medium with temperature.

to determine the dry weights of mycelium produced. The values of the final pH given in Table II are the means of ten such samples at each temperature, however, and their standard errors are given. The initial pH of the medium is taken as being 4.20 in all cases.

Results.

From Table II and Fig. 3 it will be seen that the change of pH of the medium is always towards greater acidity. If  $\frac{D}{mD}>3$  is again taken as the index of a significant difference between two final pHs, the differences between 6 and 9, and 15 and 18 are the only ones which can be regarded as significant, the differences between 9 and 12, 9 and 15, and even between 18 and 30°C lying within the limits of error. It is not known whether a change of pH would have taken place in the sterile medium in the length of time occupied by the experiment.

## II. Variation in dry weight of mycelium produced in liquid culture with the pH of the medium.

Fifty five culture flasks each containing 100 cc of the medium whose composition is given in BI (I) were prepared as described under that experiment, and were divided into five lots of ten and one of five, to which different buffer solutions were added. The buffers consisted of Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> and citric acid in the proportions given in Table III (see Oppenheimer). They were sterilised separately from the flasks in quantities of 10 cc, and were added in the disinfected inoculation chamber just before inoculation. After mixing the buffer with the culture medium, two

	cc 1/5 mol Na <sub>3</sub> HPO <sub>4</sub>	cc 1/10 mol citric acid	pH of medium after adding buffer.
1 2 3 4 5 6	0.1 2.0 3.5 5.5 6.9 9.7	19.8 8.0 6.5 4.5 3.1 0.3	$\begin{array}{c} 2.60 & \pm 0.021 \\ 3.77 & \pm 0.066 \\ 4.77 & \pm 0.036 \\ 5.97 & \pm 0.087 \\ 6.45 & \pm 0.034 \\ 7.058 & \pm 0.002 \\ \end{array}$

Table III.

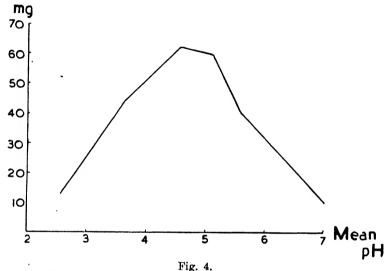
to three c. c. of the final fluid were poured out from each flask into a clean test tube for the purpose of determining the initial pH of the medium. The values obtained for the initial pHs with their standard errors are also given in Table III, each figure being the mean of ten readings except No. 6 which is based on only five, but will be seen to have a very low standard error. These values deviate considerably from the theoretical ones given in Oppenheimer, showing that the culture medium must have had a large modifying effect.

The flasks were inoculated with a spore suspension as described above, and left for 15 days at 18°C. The dry weight of mycelium produced and the final pHs were then determined as in the temperature experiment.

#### Results.

Table IV gives the figures obtained, and in Fig. 4 the dry weight of mycelium produced is plotted against the mean pH of the medium. The difference between pHs No. 3 and No. 4 is the only one for which

 $\frac{D}{mD}$   $\langle$  3. The optimum pH appears to lie between pHs 4.8 and 5.1



Variation in dry weight of mycelium produced in fifteen days in liquid medium at 18°C with the average pH of the medium.

### III. Variation in change of pH of liquid medium with initial pH of the medium.

In the last column of Table IV figures for the change of pH in each set of cultures are given, and in Fig. 5 these are shown plotted against the initial pH. It will again be seen that the change of pH is invariably towards greater acidity, and that on the acid side of the optimum pH for the growth of the fungus (see Fig. 4) the change is small and lies

Table IV.					
Edit on Internating	mg Dry wt. mycelium	Final pH	Mean pH	Change of pH	
1 2 3 4 5 6	$12.6 \pm 0,001$ $48.8 \pm 2.6$ $62.6 \pm 2.1$ $59.9 \pm 4.1$ $41.9 \pm 2.0$ $9.9 \pm 1.7$	$\begin{array}{c} 2.60 \\ 3.62 \\ 4.55 \\ 4.50 \pm 0.15 \\ 4.92 \pm 0.01 \\ 7.00 \end{array}$	2.60 3.70 4.66 5.24 5.69 7.02	0.00 0.15 0.22 1.47 1.53 0.04	

Table IV.

within the limits of possible experimental error  $(\frac{D}{mD} < 3)$ . On passing to the alkaline side of the optimum, however, there is a sharp rise in the change of pH, which is maintained to within 0.4 of the pH at which growth is practically inhibited. Readings 3, 4, and 5, for the final pHs show a general convergence as compared with the corresponding initial pHs, and it may well be that with an experiment of longer duration a common "Isometabolic point" would have been reached. It seems more probable, however, that the medium would merely have become more and more acid until further growth was inhibited, and this point would apparently have been reached more rapidly in series No. 4 than in the others. The nature of the substances producing this acid reaction, and their possible effect on the course and rate of spread of a natural infection is unknown; if, however, they are of importance in this connection, it is clear that the pH of the host tissues may well be an important factor in determining the success and rate of spread of an infection. A study of this point in conjunction with the effect of the age and vitality of the host tissues on their pH would be of interest.

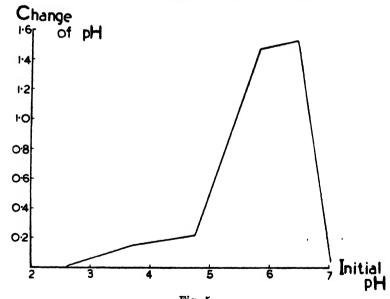


Fig. 5.

Variation in change of pH of liquid culture medium in fourteen days at 18° C with the initial pH of the medium.

#### D. Moisture Relations.

Methods. Atmospheres of different relative humidities were provided by means of a series of dessicators containing different concentrations of sulphuric acid. The initial concentrations of the acid were known, but fresh determinations were made at the end of the experiment by titrating small weighed quantities of the acid from each dessicator against 0.4 NaOH. Table V gives the mean concentration of the acid and the corresponding percentage saturation of the air with water vapour (Relative humidity), calculated from tables in Landolt and Börnstein. The saturation pressure of water

T	a	h	1	Δ	V

	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Water vapour pressure, mm Hg.	Relative humidity
1 2 3 4 5 6 7 8 9	2,0 12.4 23.9 34.6 42.6 54.6 59.4 70.2 82.6 96.1	15.2 14.3 12.8 10.5 8.0 4.2 3.0 1.1	98.2 92.4 82.7 67.9 51.7 27,4 19.4 7.1 1,8

vapour over pure water at 18°C is taken as 15.47 mm mercury, and the figures for the percentage relative humidities are therefore obtained by dividing each vapour pressure by this figure and multiplying by 100 Cultures on malt, potato, and oatmeal agars were prepared as follows: small equal quantities of agar (between 1 and 2 c.c.) were introduced into test tubes by means of a pipette. The tubes were then plugged, sterilised, and allowed to cool to the point of solidification of the agar. When solidification hat set in, the tubes were rotated one by one in an inclined position, so that a thin film of agar covered the bottom of the tube. The best results were obtained with agar which was apparently already solid but which became a viscous liquid on shaking. When cool, the tubes were inoculated and introduced into the dessicators. In the first experiment, started on Dec. 22nd, five cultures on oatmeal agar, and four on malt agar were placed in the dessicators, the oatmeal cultures containing slightly more agar than the malt. Complete series of cultures were removed after 12, 30 and 45 days, a double series of oatmeal cultures being removed on the last two occasions. In a similar experiment started on Jan. 22 nd, potato agar cultures were substituted for the malt, and cultures were removed after 22, 29, 32, 47 and 69 days.

Results. (I) Pycnidium formation.

In the first experiment with malt agar it was found that the agar film was too thin to give satisfactory growth. The mycelium spread throughout the agar at the higher humidities and turned black but produced no pycnidia, while at the lower humidities its growth was arrested in various stages by the drying out of the medium. In the oatmeal cultures, on the other hand, drying out proceeded much more slowly at the lower humi-

dities, and pycnidia were formed in the cultures in all the dessicators in approximately equal numbers after the usual 10—11 days. These pycnidia exhibited the usual extreme variability in size and stage of development within a single culture, and for this reason the results of comparisons between single pairs of cultures cannot be regarded with great confidence. It is considered, however, that, in spite of the presence of numbers of sterile pycnidia in all the cultures, the formation of spores by the largest and best developed pycnidia in some of the dissicators, and their complete absence from others is a sufficiently large difference to justify the making of a comparison.

## (II) Spore formation.

Methods of detection. Where the exudation of spores was not easily visible, sections were made of the largest pycnidia in the culture, and cotton blue was used to facilitate the detection of spores or sporogenous tissue. Since all the pycnidia in a culture could not be thus examined, a preliminary test was made by adding enough water to submerge the pycnidia, allowing to stand for half a day, and examining drops of the water for the presence of spores in suspension.

Results of the second experiment. After 22 days no spores could be detected in any of the cultures on oatmeal agar, but after 28 days brown masses of spores were visible exuding from pycnidia in cultures from dessicators No. 6 und 8, and were detected in No. 10 by sections. After 32 days spores were found in a pycnidium from 9, and nests of hyphae staining deeply with cotton blue were observed in pycnidia from dessicators 3 and 5. These were at first suspected to be perithecium initials, but as perithecia have never been found in these on other cultures of the fungus including those on sterilised twigs, these hyphal "Nests" are assumed to be an early stage in the development of sporogenous tissue. No intermediate stages between them and the well developed spore producing tissue have been observed, however. After 47 days spores were found in a pycnidium from dessicator No. 4, and the agar had dried out in all the dessicators down to and including No. 5. In the Potato agar series deeply staining hyphal "Nests" were found in dessicator No. 6 after 28 days, and well developed spore producing tissue in No. 4 after 69 days. In dessicators 1 and 2 no trace of sporogenous tissue was ever found, and the pycnidia tended to remain flattened, and not to protrude so much from the medium as in the other dessicators.

Conclusions from the humidity experiment. Although the number of cases of spore production observed was comparatively small there appears to be some evidence that a low atmospheric relative humidity tends to hasten the production of spores provided that the drying out of the medium is not sufficiently rapid to check the development of the pycnidia

before the spores are formed. It must be pointed out that the figures for the humidities given in Table VI have no absolute value since the drying out of the medium at the lower humidities was quite slow, and a changing humidity gradient must have existed between the air in the tube and that in the dessicator until this drying out was complete. It was perhaps this humidity gradient determining as it did the rate of evaporation from the medium, which also had an effect on the rate of development of the spores. At relative humidities of 82.7 % and over no spores were formed. It should be noted, however, that abundant spores were formed at a temperature of 24 % C in an apparently saturated atmosphere and on a different medium (see B II above). Once spores have formed, the presence of moisture in the substratum is necessary for their exudation.

# E. Inoculation Experiments.

These were performed on plants of Sorbus domestica, Sorbus aucuparia, and Sorbus aria var. majestica, which were grown in pots in the warm greenhouse to encourage early sprouting. Of each of the two species Sorbus domestica and Sorbus aucuparia there were ten plants, of which five were cut right back leaving only a stump of main stem and a few buds (series 1), the other five being left at a height of five feet (series 2) and possessing enough side branches to permit an average of two inoculations and one control per plant. Only five plants of Sorbus aria were available, having a main stem with buds but no side branches. A few inoculations were attempted out of doors on plants of Prunus known to be susceptible (to Valsa spp.) and also on the plant of Sorbus chamaemespilus from which the new strain was originally isolated; as these gave negative results, however, they wilk not be mentioned again.

# Inoculation technique.

The "Burning method" described by Togashi and used also by Dr. Défago was employed, and the procedure was as follows: a 2—3 cm length of the stem or branch was washed with 1 in 1000 HgCl<sub>2</sub> solution, and then with sterile water. A longitudinal slit was then made with a flamed scalpel so as to separate a strip of bark and expose a portion of the wood. The scalpel was then heated and pressed against the surface so that the exposed wood was charred, and a small area of the surrounding cortex was killed. The inoculum, consisting of a small portion of an oatmeal agar culture of the fungus containing mycelium was wedged between the free strip of bark and wood and the burnt surface and moistened with sterile water. The portion of cut stem was surrounded with a piece of sterilised cotton wool dipped in sterile water, and the whole bound round with cellophane to prevent evapora-

tion. In spite of this latter precaution it was found that the cotton wool dried out very quickly in the dry air of the greenhouse, and required re-moistening twice a day. This proved so laborious that in the later experiments a large wad of wet cotton wool was tied round the cellophane, and this was kept moist with tap water. This method achieved the desired result, but it could not be guaranteed that the unsterilised water applied on the outside did not find its way underneath the cellophane covering.

As soon as the buds of the plants of series 1 showed signs of sprouting, the main stems were inoculated below a healthy bud as described, each of the five plants being inoculated from a culture of one of the following fungi on oatmeal agar:

- (1) Valsa nivea Pers. from Populus nigra.
- (2) Valsa Persoonii Nitschke from Prunus persica.
- (3) Valsa Persoonii from Prunus Mahaleb.
- (4) Valsa cincta Curr. from Prunus Armeniaca.
- (5) Valsa from Sorbus chamaemespilus.

The first inoculations were performed on March 11th, but as no results were visible by April 4th, fresh inoculum was introduced then. This again had no visible effect on the plants, which continued to send out vigorous and healthy shoots above the point of inoculation, but six days after the second inoculation small patches of white mycelium were visible on the burnt surface of the wood of Sorbus domestica inoculated Valsa cincta. The dead tissue round the wound showed signs of increasing in area, however, and the plant remained healthy. A final attempt was made with these plants on April 10th, when fresh wounds were made on the opposite side of the stem to the old ones so that the plants were almost completely ringed, and fresh inoculum was introduced. The lower leaves of some of the plants soon began to droop under this drastic treatment, but all remained comparatively healthy except Sorlus domestica inoculated with Valsa nivea, whose leaves wilted and died. As however, no extension of the dead tissue killed by burning was observed, this could not be ascribed to the fungus, but was probably due entirely to the treatment.

Series 2. Inoculations performed on side branches of these plants on March 5th, and March 18th, met with a similar lack of success, but on March 20th all the buds and young leaves produced by the plants started dying off owing to the fact that they had been given too much water. On March 22nd the cortex of a branch inoculated with Valsa cincta turned brown and died to a length of 1 cm on each side of the point of inoculation, and by March 30th this branch was quite dead and shrivelled, and small black pycnidia were visible near the point of inoculation. In none of the other inoculated branches did these symptoms

	of inoculations of	plants of Series 2.	
	I. Whole branch killed and pycnidia formed	II. No apparent spread of fungus, but pyc- nidia formed as on dead bark	III. No extension dead tissue, and no pyc- nidia formed
S. domestica			
Valsa cincta	3/4	0 4	1/4
Valsa nivea		1/3	2/3
Valsa Persoonii from	l '		
Prunus Persica	0/3	2/3	1/3
Valsa Persoonii from			
P. Mahaleh	0/2	1/2	
Valsa from Sorbus .	0,'4	2/4	2/4
S. aucuparia			
	_	1/2	
	_	1/2	1/2
		0.19	9/9
	_	0/2	2/2
		0/1	1/1
	_		1/2
Valsa cincta Valsa nivea Valsa Persoomii from Prunus Persica Valsa Persoomii from P. Mahaleh	0/2	0 4 1/3	1/2 2/4 1/2 1/2 2/2 1/1

Table VI.
Results of inoculations of plants of Series 2.

appear, but pycnidia were visible on the burnt surfaces in many cases 10 to 14 days after inoculation. On April 8th fresh inoculations were performed on the branches of these weakened plants, and a similar result was obtained i. e. death of the branches inoculated with Valsa cincta, and the appearance of pycnidia on the burnt surfaces of many of the others. The results are summarised in Table V. From these comparatively meagre results it is not possible to draw definite conclusions about the relationship of the new strain to Valsa Persoonii and Valsa nivea, but it was observed that the size and distribution of the pycnidia formed by the fungus on the branches resembled those of Valsa Persoonii rather than those of Valsa nivea, whose pycnidia were smaller and more numerous than those of the other two fungi.

# Summary and Conclusions.

- (1) The results of a study of the variation in growth rate of a strain of Valsa (Leucostoma) isolated from Sorbus chamaemespilus with temperature and pH in solid and liquid media are given, together with figures and curves for the change of pH brought about by its growth in liquid medium.
- (2) A study of the effect of the relative humidity of the air on the formation of pycnidia and spores in agar cultures showed that low air humidities hasten the development of spores as long as the medium remains sufficiently moist to permit the full development of the pycnidia, and that no spores are formed in an atmospheric humidity of more than  $82.7\,^{\circ}/_{0}$  under the conditions of the experiment.

- (3) Inoculation experiments on species of Sorbus showed that of the five fungi employed Valsa cincta was most strongly parasitic, but that even it failed to spread in the tissues of healthy plants, and only did so in plants which had been weakened by other causes. How far this result may have been due to a loss of virulence by the fungi in culture is unknown.
- (4) The cultural studies, spore measurements, and inoculation experiments indicate that the new strain of Valsa is distinct both from the strain of Valsa nivea and from that of Valsa Persoonii employed, though it shows points of resemblance to both fungi both in cultural characters and in pathogenicity, and in many respects is intermediate between them.

# Acknowledgements.

I am greatly indebted to Prof. E. Gäumann for suggesting this piece of work and placing his laboratory equipment and facilities at my disposal, and both to him and to Dr. G. Défago for their kind help and advice throughout the investigation. I am also grateful to Dr. Krebs for much information and advice about practical details, and to Herrn Rietmann for help in growing the plants for inoculation.

# Bibliography.

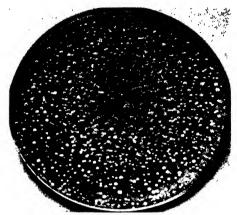
Leonian. Studies on the Valsa Apple Canker in New Mexico. Phytopath. 11, 1921, p. 236.

Oppenheimer. Die Fermente und ihre Wirkungen.

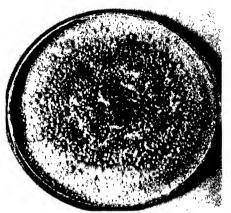
Landolt-Börnstein. Physikalisch-Chemische Tabellen.

- C. Drucker and E. Proskauer. Physikalisch-Chemisches Taschenbuch.
- A. E. Tanja. Untersuchungen über Giberella Saubinetii (Dur. et Mont.) Sacc. und die Fusariose des Weizens. Inaug.-Diss. E. T. H. Zürich 1933.
- K. Togashi. Some studies on a Japanese apple canker and its causal fungus Valsa mali. J. Coll. Agric. Hokkaido Imp. Univ. Sapporo. Vol. XII, Part 5, Dec. 1924
   Zöller. Formeln und Tabellen zur Errechnung des mittleren Fehlers.

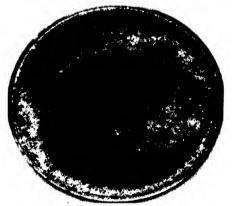
Plate Cultures in Petri dishes on oatmeal agar fifteen days old.



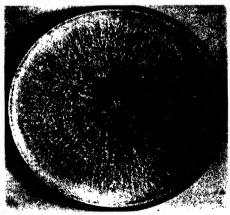
1. Valsa from Sorbus chamaemespilus. Spore measurements  $5.68 \pm 0.53~\mu > 1.55 \pm 0.59~\mu$ .



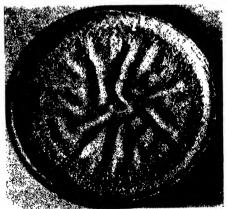
2. Valsa nivea from Populus nigra. Spore measurements  $6.00 \pm 0.57 \, \mu \times 1.39 \pm 0.07 \, \mu$ .



3. Valsa Persoonii from Prunus persica Spore measurements 6.22  $\pm$  0.74  $\mu$  imes 1.24  $\pm$  0.17  $\mu$ .



4. Valsa cincta from Prunus Armeniaca.



5. Valsa Persoonii from Prunus Mahaleb.

# Aus dem Agronomischen Institut des Staates Sao Paulo, Campinas, Brasilien.

# Eine durch Ceratostomella hervorgerufene Welkekrankheit der *Crotalaria juncea* in Brasilien <sup>1</sup>).

Von

#### A. S. Costa und H. P. Krug.

Mit 8 Textabbildungen.

Im Dezember 1934 erhielten wir einige Crotalariapflanzen, welche sichtliche Symptome einer Welkekrankheit aufwiesen. Diese Pflanzen wurden auf einigen Beeten eines Gründüngungsversuchs auf der Versuchsstation Santa Elisa in der Nähe von Campinas angetroffen<sup>2</sup>).

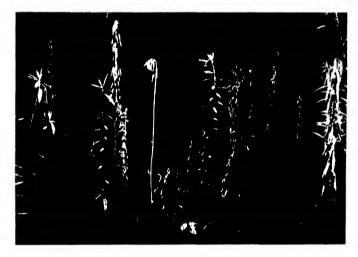


Abb. 1. Einige Pflanzen in verschiedenen Entwicklungsphasen der Krankheit.

Die nachfolgend beschriebene Krankheit ist unseres Wissens bis jetzt noch nicht in der Literatur angeführt worden. Man findet Angaben über Welkekrankheiten bei Crotalaria juncea, die durch verschiedene Pilze hervorgerufen werden: Vincens (1921) führt eine Welkekrankheit aus Tonkin an, die er einer Fusarium-Art zuschrieb. Er fand auch verschiedentlich andere Pilze, die sekundär auftraten. Briant und Martyn

<sup>1)</sup> Deutsch vom zweiten Verfasser.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>) Verfasser sind Herrn J. E. T. Mendes für die Lieferung der ersten kranken Exemplare und einiger Angaben über die Krankheit zu Dank verpflichtet.

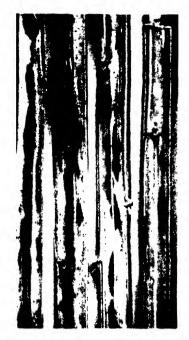


Abb. 2.

Durch die Krankheit an den Stengeln der Pflanzen hervorgerufene Flecke.

\*/5 natürlicher Größe.

ist immerhin wahrscheinlich, daß sie schon länger existierte, ohne beobachtet zu werden. Im darauf folgenden Jahre wurde sie dann auch auf der Versuchsstation Santa Elisa angetroffen, wo sie etwa  $50^{\rm o}/_{\rm o}$  der vorhandenen Pflanzen zum Welken brachte.

Da Crotalaria juncea in Brasilien ausschließlich für Gründüngung benutzt wird, scheint es anfangs, als ob die Krankheit nur eine geringe wirtschaftliche Bedeutung hätte; jedoch durch das besonders heftige Auftreten der Krankheit entstehen große Flächen abgestorbener Pflanzen inmitten der Kultur. Das geschieht nicht nur im Anfang der Vegetationszeit, sondern auch während der nachfolgenden Entwicklungsstadien, was zu einer Verringerung der Düngungsmasse führt und die Kultur von Crota-

(1929) beschrieben auf Trinidad eine solche, die ebenfalls von Fusarium sp. erzeugt wird. Mitra (1934) erwies, daß die Krankheit in Indien Fusarium vasinfectum Atk., seltener aber Rhizoctonia solani Kühn zuzuschreiben ist. Daher neigen wir zu der Ansicht, daß es sich wahrscheinlich um eine neue Krankheit dieser Pflanze handelt. Sie wurde von uns bis heute nur auf Crotalaria junca festgestellt.

Die Krankheit wurde zum ersten Mal im Anfang 1932 auf der Zweigstation des Agronomischen Instituts in Tieté vorgefunden. Es

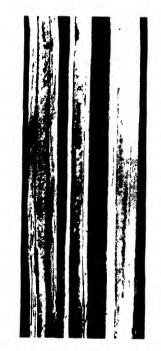


Abb. 3.

An den Stengeln der Pflanzen vorgenommene Längsschnitte. Man achte auf die dunklen Streifen der holzigen Teile und die ebenfalls dunkle Färbung des Marks.

4/5 natürlicher Größe.

laria juncca auf diesen Feldern unmöglich macht. Diese Krankheit kann für andere Länder, wo Crotalaria juncea als Faserpflanze benutzt wird, von viel größerer Bedeutung sein.

# Symptome.

Das bedeutendste Symptom der Krankheit ist das Welken sämtlicher Blätter (Abb. 1). Einige Zeit vor dem Welken derselben erscheinen dunkle, langgezogene oder ovale Flecke auf den Stengeln der Pflanze. Diese Flecke schreiten in der Richtung von der Wurzel zum Stengelende fort und können entweder einzeln abgegrenzt sein oder zu langen Streifen zusammenfließen (Abb, 2), Obwohl die Streifen



Abb 4 Von dem Pilz gebildete Peritheziengruppe auf den dunklen Flecken des Stengels. in der Nähe des Bodens. Vergr. etwa 10 ×.

manchmal ziemlich breit sein können, ist von uns ein Umgürten des Stengels noch nicht festgestellt worden. Mit dem Fortschreiten der



Abb. 5. Ein an dem Mark der Pflanze vorgenommener Längsschnitt zeigt die innen gebildeten Perithezien.

Vergr. etwa 90 ×.

dunklen Konidien erzeugt.

Krankheit beginnt das obere Ende des Stengels schlaff zu werden und zu hängen, wodurch eines der charakteristischen Symptome hervorgerufen wird. Zur gleichen Zeit beginnt das Abfallen der unteren Blätter. Später vertrocknen auch die oberen, ohne jedoch zum Abfallen zu kommen, was erst späterhin geschieht, wenn die Pflanzen vollständig trocken sind.

An den Stengeln vorgenommene Längsschnitte zeigen deutlich dunkle Streifen an den Holzteilen (Abb. 3). Im Markparenchym kann ebenfalls eine dunkle Färbung festgestellt werden, die in der ganzen Länge erscheinen kann oder auf bestimmte Abschnitte beschränkt ist. Wir sind der Ansicht, daß die Färbung der holzigen Teile entweder einer Änderung in dem chemischen Aufban. der Zellwände (Cellulosechromose) oder der starken Entwicklung eines dunklen Pilzmyzels zuzuschreiben ist.

Die dunkle Färbung des Markparenchyms wird jedoch ausschließlich durch das Myzel und die überaus reichlichen,

#### Anzeichen.

Auf den schwarzen, nekrotischen Flecken des Stengels und hauptsächlich in der Nähe des Bodens beginnt der Pilz seine Vermehrungsorgane auszubilden (Abb. 4). Auf den Stengeln, etwas unterhalb der Oberfläche des Bodens kann man sowohl Fruchtkörper als auch Myzel des Pilzes feststellen. Oft fanden wir auf den Stämmen der befallenen Pflanzen andere sekundär auftretende Pilze, welche zu den Gattungen Colletotrichum, Phoma, Vermicularia und Fusarium gehörten.

Nicht nur Ascussporen, sondern auch zwei Konidientypen werden gebildet. Das Myzel ist innerhalb des Stengels in der ganzen Länge anzutreffen. Es dringt

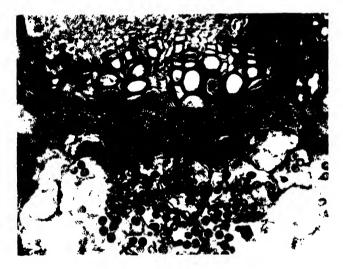


Abb. 6.
Ein Querschnitt am Stengel, der deutlich die Myzelmasse zeigt, die von dem Pilz in den verschiedenen Geweben gebildet wird.

Vergr. etwa 185 :<.

nicht nur in die Gefäßbündel der Pflanze ein, sondern kann noch in allen anderen Geweben des Stengels angetroffen werden. In dem Markparenchym der Pflanze entwickelt der Pilz seine drei Sporentypen, nämlich Ascussporen und die zwei Konidienformen. Es ist hierbei jedoch zu betonen, daß die am meisten angetroffenen Sporen die braunen Konidien sind (Abb. 5 und 6).

Es ist sehr interessant, daß im Innern des Marks regelmäßig vollentwickelte und vollkommen normale Perithezien gebildet werden (Abb. 5). Diese Perithezien entladen ihre Ascussporen ausschließlich im Mark der Pflanze. Zuletzt wurden auch noch Konidien des hyalinen Typus gefunden, die jedoch bei weitem nicht so häufig sind. In den anderen Geweben des Stengels erkennt man oft starke Myzelmassen, die nicht nur die Zellen des Xylems und Phloems, sondern auch alle anderen Gewebe einschließlich der Epidermis ausfüllen (Abb. 6).

Es ist möglich, daß das Welken der befallenen Pflanzen, im Gegensatz zu den Welkeerscheinungen, die bei anderen Arten durch das Eindringen von Fusarium und Verticillium in die Gefäße hervorgerufen werden, durch die Blockierung der Zellen und die daraus folgende Verringerung der Wasserzufuhr bedingt wird. Das ist sehr verständlich, da sich das Pilzmyzel überaus reichlich entwickelt. Eine Art Gummi wird eben-

falls oft in den befallenen Geweben gebildet. Es ist jedoch auch anzunehmen, daß der Pilz ein Toxin ausscheidet, welches zum Welken der Pflanzen beitragen kann. Zur Klärung dieser Frage ist jedoch eine nähere Untersuchung nötig.

# Ätiologie.

Der Pilz gehört, seinem sexuellen Fruchtkörper zufolge (Perithezien) (Abb. 7 und 8), der Gattung Ceratostomella an. Wahrscheinlich handelt es sich hier Ceratostomella fimbriata (E. u. H.) Elliott oder eine nahestehende Art. Die Perithezien haben einen Durchmesser von ungefähr 112-240 µ. Der Hals hat eine Länge von 224-832 u und am basalen Ende eine Breite von 80-128 u. Die Ascussporen haben eine Größe von  $3.5-5.6 \times 3.2-4.8~\mu$ . Die hyalinen Konidien erreichen eine Größe von  $35-108\times4-8~\mu$ . die braunen Konidien fanden wir folgende Masse:  $11.5-16 \times 9$  -12  $\mu$ . Die Schläuche sind überaus vergänglich und lösen sich vor der vollständigen Reife der Sporen auf. Letztere werden durch den Halskanal des Peritheziums nach außen gepreßt und bilden dann eine Kugel an dem oberen Ende. Oft kann man Spuren



Abb. 7. Perithezium des Pilzes. Vergr. etwa 70×.

der Schlauchwand an einer Seite der Sporen feststellen, die dann wie mit zwei kurzen Wimpern versehen erscheinen.

Die Isolierung des pathogenen Pilzes wurde verschiedentlich vorgenommen, sowohl von Pflanzen, die wir von der Versuchsstation in Tieté mitbrachten, als auch von solchen, die wir auf der Versuchsstation Santa Elisa in Campinas erhielten. Auf künstlichem Nährboden (Kartoffeldextroseagar) ist das Erscheinen der Perithezien überaus reichlich. Zur Zeit der Bildung der Perithezien kann man in den Kulturen einen starken Geruch bemerken (Bananenessenz), welcher jedoch beim Altern der Kulturen allmählich verschwindet.

Impfungen wurden wiederholt an Pflanzen in Töpfen und auf freiem Felde ausgeführt, wodurch jeweils die Krankheit mit ihren typischen Symptomen hervorgerufen wurde. Folgende Arten der Impfung wurden vorgenommen:

- 1. Infizierung des Bodens.
- 2. Einimpfung des Pilzes in Längsschnitte, die am unteren Teil des Stengels gemacht wurden.
- 3. Aussprühen einer Sporensuspension auf die Pflanzen.

Durch die drei Impfungstypen wurde die Krankheit künstlich erzeugt. Von den so erhaltenen Pflanzen wurde wieder derselbe Pilz durch Isolierung gewonnen.

Der Pilz lebt wahrscheinlich saprophytisch im Boden, von dem aus er die Pflanzen in verschiedenen Altersstadien anfällt. Die Infektion

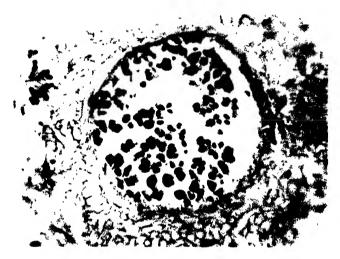


Abb. 8.
Schnitt an einem Perithezium. Man erkennt einige unreife Schläuche, deren Schlauchwand noch sichtbar ist.
Vergr. etwa 465 ×.

derselben erfolgt am häufigsten durch die Wurzeln und die der Oberfläche des Bodens am nächsten liegenden Stengelteile. In unseren Versuchen haben wir festgestellt, daß die Inkubationsperiode für Pflanzen verschiedenen Alters große Unterschiede aufweist. Bei Infizierung ganz junger Pflanzen, etwa im Alter von 20 Tagen, konnten wir beobachten, daß die Inkubationsperiode nicht größer als vier Tage war. Mit der Alterszunahme der Pflanzen stieg auch die Dauer der Inkubationsperiode an, sodaß wir bei Pflanzen im Alter von etwa vier Monaten eine solche von 15—20 Tagen feststellen konnten. Im allgemeinen sind als erstes Zeichen der Infektion die dunklen Streifen an den Stengeln anzusehen. Nur sehr selten beobachteten wir das Welken vor dem Erscheinen derselben. Auf diesen Streifen in der Nähe des Bodens erzeugt der Pilz seine Fruchtkörper, welche das Inoculum für die sekundären Infektionen erzeugen. Hyaline Konidien und Ascussporen sind wahrscheinlich für die

sekundären Infektionen in den Crotalariafeldern verantwortlich zu machen. Die sekundären Infektionen ergeben sich voraussichtlich ebenfalls durch die Wurzeln und unteren Stengelteile. Jedoch beobachteten wir auch Fälle, bei denen sich die Infektionen wahrscheinlich auf halber Höhe der Pflanzen ergeben hatten. In diesen Fällen welkte der obere Teil der Pflanzen, da sich der Pilz ja schneller oberhalb der wahrscheinlichen Infektionsstelle ausbreitete; das Markparenchym und die holzigen Teile waren hier dunkel gefärbt. Der untere Teil dagegen behielt sein normales Aussehen bei.

Da sich innerhalb der abgestorbenen Pflanzen große Mengen von braunen Konidien vorfinden, ist anzunehmen, daß dieselben als überwinternde Sporen entweder im Innern der verfallenden Pflanzenteile oder selbst im Boden eine wichtige Rolle spielen.

Ob die Samen der befallenen Pflanzen als Träger der Krankheit anzusehen sind, unterliegt noch einer näheren Untersuchung. Auch eine solche über die Bekämpfungsmaßnahmen wurde bereits eingeleitet. Die Ergebnisse dieser Versuche werden gelegentlich zur Veröffentlichung gebracht.

#### Zusammenfassung.

Es wird eine neue Welkekrankheit von Crotalaria juncea beschrieben, die in der Literatur noch nicht angeführt wurde.

Ein Pilz aus der Gattung Ceratostomella, wahrscheinlich Ceratostomella fimbriata (E. und H.) Elliott oder eine nahestehende Art, war bei allen erkrankten Pflanzen anzutreffen.

Impfungsversuche bewiesen hinlänglich die Aggressivität des Pilzes. Untersuchungen über Bekämpfungsmaßnahmen wurden bereits eingeleitet.

#### Literatur.

- 1 Vincens, F.: Une maladie du collet des Crotalaires au Tonkin. Bul. Agric. de l'Inst. Scient. de Saigon, 3, 381—384, 1921. (Ref. Rev. Appl. Myc., 1, 294.)
- 2 Briant, A. K. and Martyn, E. B.: Diseases of Cover Crops. Tropical Agriculture, 6, 258-260, 1929.
- 3 Mitra, M.: Wilt Disease of Crotalaria juncea Linn. (Sann-Hemp). Indian Jour. Agric. Sci. 4, 701-714. 1934.

# Über "Frostblasen" an Blättern des Apfelbaumes.

Von

## Hans Wartenberg.

Mit 2 Textabbildungen.

# Einleitung.

In den letzten April- und den ersten Maitagen dieses Jahres erlebten wir, als die Frühjahrsentwicklung der Obstbäume im Gange war, einen Einbruch mächtiger kalter Luftmassen, der uns Frost und sogar Schneestürme brachte. Man konnte nach diesen kalten Tagen an den Apfelblättern zunächst nur kaum nennenswerte Kälteschäden feststellen. Erst im Laufe der Zeit kamen solche auch an anderen Pflanzen in mannigfacher Weise zum Vorschein, so daß ein Beobachtungsmaterial zu untersuchen war, wie es nur selten zu finden ist. Um mir nicht größere Aufgaben zu stellen, als ich in der verhältnismäßig kurzen Entwicklungszeit der Schadenbilder neben meinen anderen Arbeiten bewältigen konnte, beschränkte ich meine Beobachtungen auf die Frostblasen der Apfelblätter.

Im voraus sei vermerkt, daß mitunter Resistenzunterschiede der Sorten zu beobachten waren, daß sie aber aus folgenden Gründen nicht eindeutig aufgeklärt werden konnten. Einesteils ist die Empfindlichkeit sehr von dem Entwicklungszustande abhängig, und letzterer wird von den Standortsbedingungen beeinflußt. Andernteils ist die Dauer und Intensität der Kälteeinwirkung auch schon in einem verhältnismäßig engen Bezirk örtlich so verschieden, daß eine vielleicht resistentere Sorte in einer ungeschützten Lage Schaden erleiden kann, weil sie an ihrem Standort den Kälteeinwirkungen ausgesetzt ist, und daß dagegen eine empfindlichere Sorte unbeschädigt bleibt, weil sie zufällig einen günstigeren Standort hat.

Die Blätter anderer Obstarten, wie z. B. die Pflaumenblätter, hatten verschiedene andere Kälteschäden aufzuweisen, die aber keine so charakteristischen Formengruppen bildeten, wie es bei den Frostblasen der Apfelblätter der Fall war.

# Die Entwicklung des Schadenbildes.

Der Anfang des Entstehens der "Frostblasen" an Apfelblättern, von dem man einwandfrei auf die Art und die erste Wirkung der Ursache schließen könnte, ist nicht beobachtet worden. Er kann auch praktisch nicht beobachtet werden. Der Schaden ist nämlich erst in einem verhältnismäßig späten Stadium, wenn die Blattoberfläche Wellungen oder Buckel bekommt, zu sehen, und die Frage, ob es sich um eine Kältewirkung handelt, kann deshalb nur aus gewissen Anhaltspunkten heraus beantwortet werden.

Die Wellungen oder Buckel können mehr oder weniger große Teile der Blattfläche einnehmen (vergl. Abb. 1). Im Anfang werden die anormalen Unebenheiten der Blattfläche von den Interkostalfeldern zwischen

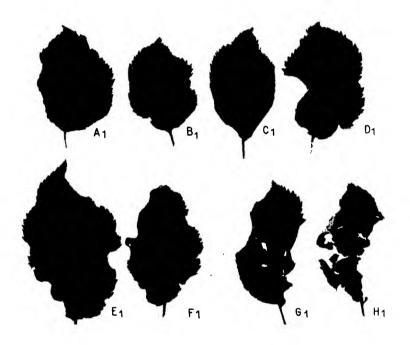


Abb. 1

Frostblasen an Blättern des Apfelbaumes. Ansichten der Oberseiten der Blätter.  $A_1 = k$ leine Frostblasen am Blattgrunde.  $B_1 = g$ rößere Frostblasen am Blattgrunde.  $C_1 = g$ rößere Frostblasen an der Blattspitze.  $D_1 = f$ ast die ganze Blattfläche hat Frostblasen gebildet.  $E_1 = d$ ie gewölbten Gewebe der Blattoberseite sind verbräunt und schon z. T. vertrocknet.  $E_1 = d$ as verbräunte und vertrocknete Gewebe zersplittert.  $G_1$  und  $G_1 = d$ as vertrocknete und zersplitterte Gewebe fällt aus dem Gewebsverband heraus und das Blatt wird zerfetzt.

den Nerven dritter oder zweiter Ordnung gebildet. Es sind Buckel, die sich über die Ebene der Blattoberfläche aufwölben. Mit dem weiteren Wachstum der Blätter können sich dann mehrere Buckel vereinigen und eine größere Aufwölbung bilden, wobei die ursprünglichen Einzelbuckel mehr oder weniger verschwinden.

Betrachtet man ein solches Blatt von der Unterseite, dann findet man keine Einwölbung der unteren Blattfläche, die der Aufwölbung der oberen entsprechen würde. (Vergl. B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> und C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> der Abb. 1 und 2.) Die Aufwölbung der Blattoberseite bildet gewissermaßen ein Paukenbecken und die Epidermis der Blattunterseite das Trommelfell, welches dem Paukenbecken aufgespannt ist. Daß die Epidermis der Unterseite des Blattes tatsächlich unter außergewöhnlicher Spannung steht, erkennt man, wenn man sie mit einem scharfen Messer anritzt. Sie zerreißt dann wie ein gespanntes Trommelfell, das man in dieser Weise behandelt.

Stellt man für mikroskopische Zwecke einen Blattquerschnitt her, dann zerreißt beim Einklemmen die untere Epidermis, und die Gewebe,



Abb. 2.

Frostblasen an Blättern des Apfelbaumes. Ansichten der Unterseiten der Blätter. Vergl. Abb. 1. A<sub>2</sub> ist die Rückseite zu A<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> zu B<sub>1</sub> usw. Bei den Blättern A<sub>2</sub> bis C<sub>2</sub> sind die Frostblasen nur an der helleren Färbung der betreffenden Stellen zu erkennen. D<sub>2</sub> = die Spannung der unteren Epidermis ist so groß geworden, daß sie zerreißt. Das Mesophyll verbräunt. E<sub>3</sub> bis G<sub>2</sub> = die zerrissene untere Epidermis kräuselt sich zum Rande der Frostblase hin auf. Das Gewebe der Oberseite des Blattes verbräunt und vertrocknet. G<sub>3</sub> und H<sub>2</sub> vergl. G<sub>1</sub> und H<sub>1</sub> der Abb. 1.

welche die Wölbung bilden, werden in eine Ebene gestreckt, wobei sie in Stücke zerbrechen können. Es bleibt also das tatsächliche anatomische Bild des Schadens nicht erhalten. Man kann deshalb nur die Teilstücke beschreiben und muß den Zusammenhang rekonstruieren.

Obere Epidermis und Palisadenparenchym zeigen gegenüber dem Querschnitt eines normalen Blattes keinen Unterschied. Das Schwammparenchym ist parallel zur Blattfläche gespalten. Sein größerer Teil ist noch in Verbindung mit dem Palisadenparenchym und scheint mitunter gegenüber den Verhältnissen im normalen Blatt ein weniger lockeres Gewebe zu sein. Die Zellen der Spaltflächen des oberen Teiles sind in der Form von fadenartigen Zellreihen ausgewachsen, die in den Spaltraum hineinragen (kallöse Wucherungen).

Die untere Epidermis und eine Schicht von Zellen des Schwammparenchymes, welche mit ihr verwachsen ist, zeigen im mikroskopischen Bild der Zellen und der Textur keine Mißbildungen. Sowohl die Zellen des Schwammparenchyms als auch diejenigen der Epidermis lassen sich plasmolysieren und erreichen nach dem Wässern wieder den Turgor. Die Stomata sind funktionsfähig.

An den Stellen, wo die Epidermis über das Gewebe gespannt ist, welches unter dem Gefäßbündel eines Blattnervs als geschlossenes Parenchym die Schwammparenchyme der beiden benachbarten Interkostalfelder verbindet, sind Verbräunungen zu beobachten. Auch die Gefäßbündel selbst sind mitunter, aber nicht immer gebräunt. Die Verbräunungen sind keine spezifischen Symptome einer Kältewirkung. Sie zeigen nur an, daß in den betreffenden Teilen Chromogene und Oxydasen vorhanden sind und daß aus irgendeinem Grunde in diesen Zellen ein höherer Sauerstoffdruck vorhanden war oder als Nachwirkung einer Schädigung vorhanden ist. Läßt man das Querschnittspräparat eines gesunden Blattes vor dem Mikroskopieren einige Zeit an der Luft liegen, dann werden die Gewebe auch gebräunt, und auch diese Verbräunung nimmt bei den Gefäßbündeln ihren Anfang.

Mit dem weiteren Wachstum des Blattes wird an den "Frostblasen" die Spannung der unteren Epidermis so groß, daß sie schließlich zerreißt. Erst dann, wenn die Rißwunden zu beobachten sind, treten auch im Spaltraume, also im Innern der Frostblasen, Verbräunungen auf. Neben der oben beschriebenen Beobachtung, daß die Zellen der gespannten Epidermis normale Permeabilitätseigenschaften besitzen, ist auch hieraus zu schließen, daß die Epidermis auch dann, wenn sie durch den Spalt von der Zellmasse der oberen Teile des Blattquerschnittes getrennt ist, gewisse Funktionen in normaler Weise ausübt. Die Kutikula muß unverletzt sein und der Gasaustausch muß von den Schließzellen reguliert werden können. Der Spalt, der Hohlraum der Frostblase, ist also als ein vergrößerter Interzellularraum anzusehen.

In etwas unterscheidet er sich von den gewöhnlichen Eigenschaften eines Interzellularraumes. Bei feuchtem Wetter kann er sich mit Wasser füllen. Die Frostblase ist dann auf der Unterseite des Blattes nicht mehr als heller gefärbter, sondern als dunklerer glasiger Fleck zu erkennen. Die Wasserfüllung konnte nur bei kleinen Frostblasen beob-

achtet werden. Ob das Wasser von außen aufgenommen wird oder ob es aus dem Innern der Pflanze kommt, wurde nicht festgestellt.

Nach dem Zerreißen der unteren gespannten Epidermis vertrocknet diese, nimmt eine braune Farbe an und kräuselt ihre Fetzen nach dem Rande der Frostblase hin zusammen. Dann verbräunt auch das innere Gewebe der Wölbung, zuerst das Schwammparenchym, dann das Palisadenparenchym und schließlich auch die Epidermis der Oberseite des Blattes. Gleichzeitig setzt ein Vertrocknen ein, die Zellen sterben ab, und letzten Endes ist der Umfang der Frostblasen an der Oberseite des Blattes als Trockenfleck zu sehen. Mit der Zeit zersplittert das vertrocknete Gewebe, und das Blatt wird durchlöchert und, wenn die Frostblasen einen entsprechenden Umfang hatten und z. T. bis zum Rande des Blattes reichten, zerfetzt.

# Über die Ursache und Mechanik des Entstehens der "Frostblase".

Es liegt kein direkter Beweis dafür vor, daß das Entstehen des oben beschriebenen Schadens auf eine Kältewirkung zurückzuführen ist. Was dafür spricht, ist die Tatsache, das die "Frostblasen" nur an Blättern zu sehen waren, die ein bestimmtes gleiches Entwicklungsalter hatten.

Die ältesten Blätter, welche schon vor dem Kälteeinfall ausgebreitet waren, zeigten nachher keine Frostblasen. Sie blieben im Wachstum zurück und hatten z. T. Mißbildungen, wie Verkümmern der Blattspitze und dergleichen mehr. In keinem Falle waren Symptome eines partiellen Gefriertodes zu sehen. Die Wachstumshemmung ist neben einem Vergilben, das an einzelnen Blättern zu sehen war, ein Symptom des Erfrierschadens, der direkten Kältewirkung ohne Gefrieren. Bei den ersten Blättern des Apfelbaumes ist dieses Symptom aber nicht einwandfrei zu beurteilen; denn sie können auf Grund anderer Ursachen eine Wachstumshemmung erfahren.

Die "Frostblasen" waren an den Blättern zu sehen, welche sich während der kalten Witterung noch nicht ausgebreitet hatten und gewissermaßen die Hülle der noch nicht entfalteten Teile der Knospe bildeten, bei denen also nur die Blattunterseiten der Witterung ausgesetzt waren. Alle späteren Blätter entwickelten sich in normaler Weise.

Wenn der Nachweis der Ursache auch unvollkommen ist, so geben die Umstände doch genügend zu erkennen, daß es sich hier um eine Kältewirkung handelt. Es war weder makroskopisch noch mikroskopisch eine andere Ursache festzustellen, noch ist etwas anderes bekannt, was unter den geschilderten Umständen das oben beschriebene Schadenbild hervorrufen könnte.

Es gibt Kälteschäden an Pflanzen, welche, wie dieser Fall, die Folge des Zusammentreffens gewisser Entwicklungszustände und besonderer Umweltbedingungen in den Zeiten vor, während und nach der Frosteinwirkung sind. Solche Krankheiten experimentell zu bearbeiten, ist ungewöhnlich schwierig. Ein entscheidendes Experiment, welches einer eindeutigen Erklärung der Vorgänge zugrunde gelegt werden könnte, ist

dann meistens nicht anzustellen. In diesen Fällen muß die Beschreibung des Zusammenhanges zwischen der vermutlichen Ursache und dem Schadbilde nach zufälligen Beobachtungen abgefaßt werden und erst aus einer Reihe von Beobachtungen, die im Laufe der Zeit von Forschern mitgeteilt werden, formt sich das gesicherte Verstehen der Ursachen und der Vorgänge.

Hoffmann (1) war der erste Forscher, der an Ceratonia, Laurus und Camphora blasige Abhebungen der Epidermis feststellte und sie Frostblasen nannte. Sorauer (8, 1902) untersuchte Frostblasen an Apfelbaum- und Kirschbaumblättern. Das anatomische Bild, welches er zeichnete, hat eine unverkennbare Ähnlichkeit mit dem, was ich in diesem Frühjahr an meinen Präparaten beobachten konnte. Das Zustandekommen der Frostblasen erklärte Sorauer in folgender Weise. Während der Frosteinwirkung, d. h., während des Gefrierens, das Sorauer voraussetzt, soll das jugendliche Blatt, das an sich schon mit den Blatträndern nach oben gekrümmt ist, diese Bewegung noch in verstärktem Maße ausführen, und dabei soll die Epidermis der Blattunterseite über die Grenze ihrer Elastizität gezerrt werden, so daß sie ein größeres Flächenmaß annimmt, nach dem Auftauen und dem Ausbreiten des Blattes für die Bedeckung der Blattfläche zu groß ist und sich deshalb vom Mesophyll lösend in Falten bzw. Blasen abheben muß.

Solereder (7) beschrieb Frostblasen, die er an Blättern des Aprikosenbaumes beobachtet hatte, und erklärte ihr Entstehen im Sinne der Sorauer'schen Vorstellung. Bei Buchsbaumblättern hatte er einen Schaden festgestellt, den er Frostfleck nannte. Beim Frostfleck ist im Gegensatz zur Frostblase die Epidermis der Blattunterseite und das Schwamuparenchym abgestorben. Ferner wird das Wuchergewebe des Blattinnern von haarartigen Auswüchsen eines "rundlich-zelligen Assimilationsgewebes" gebildet, welches bei den Buchsbaumblättern das Palisadengewebe vom Schwammparenchym trennt.

Im Gegensatz zu Sorauer (8, 1902) erklärte F. Noack (4, 1905) das Entstehen der Frostblasen mit einer anderen Vorstellung: "Die Frostblasen entstehen dadurch, daß sich aus den Zellen Wasser in die Interzellularräume ergießt und dort zu Eis erstarrt, sobald die Temperatur bis zu einem gewissen, für die einzelnen Pflanzenarten verschiedenen Grad unter den Gefrierpunkt sinkt. Da das Erstarren des Wassers mit einer starken Volumzunahme verbunden ist, so findet in vielen Fällen eine solche Dehnung der Gewebe statt, daß an den Stellen geringsten Widerstandes ihr Verband sich löst und die geschilderten Frostblasen und Lücken entstehen."

Die Noack'sche Vorstellung ist an die Beobachtungen von Sachs (6), Prillieux (5), Müller-Thurgau (3) und Molisch (2) angelehnt. Diese Forscher haben festgestellt, daß beim Gefrieren im Inneren der Pflanzen Eisdrusen gebildet werden, welche eine Trennung des Gewebeverbandes der Zellen verursachen.

Sorauer (9) erklärte in einer späteren Arbeit (1906), daß die Bildung von Eisdrusen in krautigen Pflanzen zwar eine bekannte Erscheinung sei, daß sie aber regelmäßig nur in den Geweben der Blattstiele und Blattnerven und nicht in den Interkostalfeldern zu finden wären. Dem sind die Beschreibungen Noack's entgegen zu halten, nach denen er zwar hauptsächlich eine Eisbildung in den Blattstielen und Blattnerven, aber auch eine Eisbildung in den Interkostalfeldern beobachtet hat.

Weder die Sorauer'sche noch die Noack'sche Theorie sind imstande, das Entstehen derartiger Frostblasen, wie ich sie an Apfelblättern beobachtet habe, zufriedenstellend erklären zu können.

Die tangentiale Zerrung der unterseitigen Epidermis des Blattes müßte ja zu einer Verlängerung führen, wogegen hier eine Verkürzung vorlag. Die Ähnlichkeit der anatomischen Bilder, welche Sorauer gezeichnet hat und ich in diesem Frühjahr gesehen habe, steht dazu nicht im Widerspruch; denn Sorauer hat ja die Spannungsverhältnisse nicht am mikroskopischen Bild erkannt, sondern nur als Vorstellung seiner Theorie zugrunde gelegt. Diese Dinge sind am mikroskopischen Präparat nicht zu erkennen, weil das natürliche anatomische Bild beim Präparieren nicht erhalten bleibt. An einem Blatt, welches größere Frostblasen aufzuweisen hat, ist makroskopisch leicht zu erkennen, daß das Größenverhältnis der Epidermen von Blattunterseite und Blattoberseite dem, was Sorauer beschrieben hat, widerspricht.

Will man trotzdem an der Sorauer'schen Theorie festhalten, dann muß man sie erweitern und den Vorgang in folgender Weise erklären. Durch die Zerrung der Epidermis und durch die Spreitung des Blattes kommt zunächst das Abheben der ersteren zustande. Damit erleiden die Epidermis und die Mesophyllzellen, welche mit ihr in Verbindung bleiben, eine Schädigung, welche sich lediglich in einer Wachstumshemmung auswirkt. Durch das nachfolgende ungleichmäßige Wachstum von Oberseite und Unterseite des Blattes, bei dem sich die erstere stärker ausbreitet als die letztere, muß sich das Flächenverhältnis der beiden Blattseiten, das zuerst durch die Zerrung der Unterseite zu Ungunsten der Oberseite verändert war, umkehren, die Blattseite also im Querschnitt einen Wölbungsbogen bilden und die Blattunterseite als Sehne die Wölbung spannen.

Was Sorauer bei seiner Theorie als ersten Teil des Vorganges voraussetzte und weder von ihm noch von anderer Seite bewiesen wurde, ist durchaus keine innere Notwendigkeit der Mechanik des Vorganges. Durch die Beobachtung, welche Solereder (7) an Buchsbaumblättern gemacht hat, wissen wir, daß die Unterseite eines Blattes von der Kälte geschädigt werden kann, während sich die Oberseite als resistent erweist. Es braucht darum bei der Bildung der Frostblasen nicht eine Zerrung der unteren Epidermis die erste Ursache zu sein und die bleibende Streckung der Epidermis zur Trennung der Gewebe zu führen. Man kann sich den Vorgang viel einfacher vorstellen, wenn man annimmt, daß eine direkte Schädigung der Unterseite des Blattes durch Kälte sich in einer Wachstumshemmung auswirkt und die Trennung der Gewebe eine Folge des späteren ungleichmäßigen Wachstums ist.

Wenn man das Entstehen der Frostblasen mit der Noack'schen Theorie erklären will, dann stößt man auf ein Hindernis. Die Größe der Blasen, d. h., die Größe der Epidermabhebungen, steht in keinem Verhältnis zu dem, was man sich als Wirkung einer Eisdruse vorstellen kann. Eine Gewebetrennung, welche durch die Eisbildung verursacht wird, kann nach allen bisher vorliegenden Erfahrungen nur kleine Gewebeteile beschädigen. Will man solches als Anfang des Vorganges bezeichnen, dann muß man, um das Ausmaß der Frostblasen erklären zu können,

immer noch eine Wachstumshemmung der Blattunterseite als begleitende Wirkung der Kälte annehmen. Auch hierbei kann dann wie in der Stellungnahme zu Sorauer's Theorie gesagt werden, daß die Trennung der Gewebe durch die Eisdrusen keine Notwendigkeit der Mechanik des Vorganges ist. Ich möchte deshalb den Vorgang unabhängig von den beiden Theorien in folgender Weise erklären.

Die Frostblasen sind die Folge einer ungleichen Kältewirkung auf die Gewebeteile der beiden Seiten des Blattes. Wegen ungleicher Resistenzeigenschaften oder vielleicht auch nur wegen des bestimmten Entwicklungszustandes, bei dem die Blattunterseite mehr als die Blattoberseite dem Witterungseinfluß ausgesetzt ist, erleidet die untere Epidermis eine Wachstumshemmung. Als Folge davon muß sich die Blattoberseite bei ihrem schnelleren Weiterwachsen aufwölben. Dabei entsteht im Mesophyll eine Spannung, die dort, wo der geringste Widerstand ist, zur Trennung der Gewebe führen muß.

# Zusammenfassung des Inhaltes.

Es werden die Symptome und Entwicklungszustände der Frostblasen an Apfelblättern beschrieben. In einer Besprechung der Sorauer'schen und Noack'schen Theorien über die Ursache und die Mechanik des Entstehens der Frostblasen wird festgestellt, daß diese Theorien keine befriedigenden Erklärungen geben können. Nach der Erklärung des Verfassers erleidet die Blattunterseite durch die Kälte eine Wachstumshemmung und die Frostblasen kommen dann durch ungleich schnelles Wachstum der beiden Blattseiten zustande.

#### Schriftenverzeichnis.

- Hoffmann, zit. nach Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten, 3. Auflage, I. Band, S. 523.
- 2 Molisch, H., Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen, Jena 1893.
- 3 Müller-Thurgau, H., Über das Gefrieren und Erfrieren der Pflanzen. Landw. Jahrbücher, 9, 133, 1880 und 15, 453, 1886.
- 4 Noack, F., Über Frostblasen und ihre Entstehung. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, 15, 29, 1905.
- 5 Prillieux, E., Sur la formation de glaçons à l'intérieur des plantes. Ann. de scienc. natur. V. Serie, vol. 13, Botanique T. XII, 125.
- 6 Sachs, J., Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen und Krystallbildung usw. Berichte über die Verhandlungen der Königl. Sächs. Ges. d. Wissensch. z. Leipzig 1860.
- 7 Solereder, H., Über Frostblasen und Frostflecken an Blättern. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, 2, 253, 1904.
- 8 Sorauer, P., Frostblasen an Blättern. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., 12, 44, 1902.
- 9 Sorauer, P., Die mechanische Wirkung des Frostes. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 24, 43, 1906.

#### Berichtigung.

In der Arbeit Ronsdorf: "Weitere Untersuchungen über den Nachweis biologischer Rassen des Gerstenzwergrostes, *Puccinia simplex*, Erikss. et Henn." (Band VIII, Heft 3 dieser Zeitschrift, S. 237) sind als Folge eines Betriebsunfalles in der Druckerei nachstehende Druckfehler entstanden:

Es muß heißen:

Überschrift: statt Gerstenzwangrost Gerstenzwergrost.

Seite 239: (Tabelle) statt Quine Quinn. Seite 241: statt curylepis eurylepis.

In Tabelle 2 bei der Sorte Breustedts Schladener, 1. Rubrik, statt 2-2 3-2.

Seite 243: In Nr. 1 des Literaturverzeichnisses statt Getreideobstpilze Getreiderostpilze. In Nr. 6 des Literaturverzeichnisses statt "Succeptibility of barley leaf rust" muß es

heißen: "Susceptibility of barley to leaf rust". Ebenda: statt powderry powdery.

Nel nostro lavoro: "Su di una tracheomicosi dell' amaranto, ecc." (questa Rivista, Bd. 8, Heft 4). a pagg. 379—382 e in Fig. 8, si legga invece di Sempervivum tectorum L. Gomphrena globosa L. O. Verona e A. Ceccarelli

# Aus dem Agrikulturchemischen Institut Weihenstephan der Technischen Hochschule München.

# Gefäß- und Wasserkulturversuche über die Wirkung des Bors allein und in Kombination mit Jod in Düngemitteln.

Von

K. Scharrer und W. Schropp.

Mit 6 Textabbildungen.

Zur Beantwortung der Frage, inwiefern die geringen Bormengen, die in gewissen Düngemitteln vorhanden sind, eine spezifische Wirkung auszuüben vermögen, haben wir vor kurzem in Wasserkulturversuchen die Wirkung des synthetischen Natronsalpeters für sich allein und mit Borzusätzen mit der des Chilesalpeters zu verschiedenen Kulturpflanzen (Sommerweizen, Sommerrogen, Futtermais, Zuckerrüben, Futterrüben) geprüft 1). Die günstige Wirkung von Natronsalpeter plus Bor und Chilesalpeter zu Zucker- und Futterrüben im Vergleich zu Natronsalpeter hinsichtlich der Verhinderung der Herz- und Trockenfäule und der dadurch bewirkten Erhöhung des Ernteertrages veranlaßte uns, im Jahre 1934 weitere Wasserkultur- und daran anschließend auch Gefäßversuche mit Futter- und Zuckerrüben durchzuführen, wobei wir teilweise noch andere Pflanzen in die Versuche einbezogen und ferner auch die Frage prüften, inwieweit eine Kombination von Bor mit Jod das Pflanzenwachstum beeinflußt.

# A. Wasserkulturversuche.

- I. Versuch zu Mais.
- 1. Versuchsplan.
- a) Grundlösung mit Chilesalpeter
- b) Grundlösung mit Natronsalpeter + J als NaJO<sub>3</sub>
  - 2. Versuchsgrundlagen.

Jede Düngungsart umfaßte 9 Gefäße mit je einer Pflanze. Die Gefäße hatten 2 Liter Inhalt. Als Grundlösung wurde eine abgeänderte v. d. Crone-Nährlösung verwendet, in der anstelle des  $\mathrm{KNO_3}$   $\mathrm{K_2SO_4}$  verwendet wurde.

<sup>1)</sup> K. Scharrer und W. Schropp, Phytopatholog. Ztschr. 7, 245 (1984).

1000 ccm H<sub>2</sub>O 0,50 g CaSO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0,25 g Ca<sub>8</sub> (PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 0,50 g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0,50 g Fe<sub>8</sub> (PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 0,86 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Die Stickstoffgabe betrug je Liter Nährlösung 0,3 g N als Chilesalpeter bzw. Natronsalpeter. Der zu dem Versuch verwendete Natronsalpeter enthielt 16,40 %, N, der Chilesalpeter 15,84 %, N, 0,014 % Gesamt-J und  $0.0305^{\circ}/_{0}$  B =  $0.174^{\circ}/_{0}$  H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>. Bei einer Stickstoffgabe von 0.3 g N je Liter entfallen somit 0,00026 g J, die bei der Düngungsart Natronsalpeter + Jod in Form von NaJO, gegeben wurden, einem Merckschen Präparat, dessen Jodgehalt vorher zur Bestimmung gelangte. Der Mais, gelber badischer Landmais Original, wurde am 14. Mai im Sägmehlkeimbett ausgelegt und lief am 18. Mai gleichmäßig auf. Nach zweimaliger sorgfältiger Auslese wurden die Pflänzchen am 22. Mai in die Nährlösung übertragen. Die Stickstoffgabe wurde am 29. Mai und gleichzeitig damit auch die Jodgabe gegeben. Die Lösung wurde am 27. Juni vollkommen erneuert, wobei die Stickstoff- und Jodgaben am 28. Juni verabreicht wurden. Der Mais entwickelte sich in beiden Lösungen sehr gut, ohne deutliche Unterschiede in irgendwelcher Richtung zu zeigen. Das Schossen trat bei beiden Düngungsarten am 14. Juli, die Blüte am 17. Juli ein. Die Ernte wurde am 23. Juli vorgenommen.

## 3. Versuchsergebnisse.

Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Der Ertrag an Trockenmasse ist bei Natronsalpeter + Jod um 0,98 g höher als bei Chilesalpeter. Diese Differenz ist jedoch fehlerkritisch nicht gesichert, infolgedessen müssen die beiden Düngungsarten in ihrer Leistung gleich gestellt werden. Beim Wurzelgewicht ist das Umgekehrte der Fall; der geringe Mehrertrag ist ebensowenig gesichert wie bei der Trockenmasse, so daß für den ganzen Versuch der Schluß gezogen werden kann, daß die Trockenmasse des Sprosses und das Trockengewicht der Wurzeln durch die beiden Düngungsarten in gleicher Weise beeinflußt worden sind.

#### II. Versuch zu Futterrüben.

# 1. Versuch splan.

- a) Grundlösung mit Natronsalpeter
- b) Grundlösung mit Natronsalpeter + Bor in äquivalenter Menge wie im Chilesalpeter.
- c) Grundlösung mit Chilesalpeter.

# 2. Versuchsgrundlagen.

Jede Düngungsart umfaßte 10 Gefäße. Die Gefäße hatten 4 Liter Inhalt und wurden mit je 1 Pflanze besetzt. Die Nährlösung war die gleiche wie bei dem Versuch zu Mais mit dem Unterschied, daß je Liter Lösung noch 0.05 g NaCl beigegeben wurden. Die Stickstoffgabe betrug je Liter Lösung 0.3 g N in den verschiedenen Formen. Entsprechend dem Borgehalt des Chilesalpeters und der verabreichten Stickstoffgabe wurden je Liter Lösung bei der Düngungsart Natronsalpeter + Bor 0.0033 g  $H_8BO_8$  gegeben. Die Rüben wurden am 1. Juni in die Lösung eingesetzt. Während des Versuches wurde die Lösung am 27. Juni vollständig erneuert. Im Verlaufe des Versuches wurden folgende Wachstumsbeobachtungen festgehalten:

13. Juni: Sämtliche Rüben sind sehr gut angewachsen. Die Rüben in Natronsalpeter allein bleiben im Wachstum deutlich zurück und sind ihrem Stande nach dürftiger. Zwischen den Rüben in Natronsalpeter + Bor und in Chilesalpeter bestehen noch keine Unterschiede.

26. Juni: Die Reihe mit Natronsalpeter allein fällt ganz erheblich in der Entwicklung von den übrigen Düngungsarten ab. Die Pflanzen



Abb. 1. Wasserkulturversuch zu Futterrüben.

('hilesalpeter

+ B äquiv.

Natronsalpeter

Natronsalpeter

zeigen außer der Minderentwicklung vielfach chlorotische Erscheinungen auf den Blättern, die Herzblätter sind durchweg schwarzgrau und beginnen abzusterben. Auch sonst tritt vielfach eine dunkelbraune Färbung der Blattränder und Spitzen auf und ihre Ränder rollen stark ein. Die Neigung zur Herzfäule ist unverkennbar. Zwischen der Reihe Natronsalpeter + Bor und Chilesalpeter ist ein Unterschied nicht festzustellen. Beide Versuchsreihen zeigen eine üppige, dunkelgrüne Blattmasse. Die Entwicklung der Rübenkörper ist bei Chilesalpeter und Natronsalpeter + Bor ganz erheblich besser als bei Natronsalpeter allein. Krankheitserscheinungen an den Herzblättern und Rüben sind weder bei Natronsalpeter + Bor noch auch bei Chilesalpeter in keinem einzigen Falle feststellbar.

- 2. Juli: Unverändert, Herz- und Trockenfäule verstärkt.
- 6. Juli: Bei Natronsalpeter sind die Herzblätter sämtlicher Pflanzen schwarzbraun und abgestorben. Auch sind zum Teil bereits ganze Pflanzen abgestorben. Zwischen Natronsalpeter + Bor und Chilesalpeter besteht im allgemeinen kein Unterschied.

1) Gesamtgewicht von Rüben, Blättern und Wurzeln.

Tabelle 1. Ernteergebnisse des Wasserkulturversuches zu Mais.

7,66 6,55	7,49 7,81	6, <u>48</u> 6,53	100,00 8 <b>1</b> ,68	100,00 105,65	13,42 16,29	-0,57	$\begin{vmatrix} 3,72 \pm 0,20 \\ 3.15 \pm 0,21 \end{vmatrix} - 0,57$	20,35 19,39	+ 0,98	$\begin{vmatrix} 17,34 \pm 0,75 \\ 18,32 \pm 0,75 \end{vmatrix}$	Chilesalpeter Natronsalpeter + Jod
23. Juli	29. Mai 29. Juni 23. Juli	29. Mai	Wurzel- gewicht	Trocken- Wurzel- masse gewicht	masse	Chile- salpeter	gewicht trocken g	masse	('hile- salpeter g	Trockenmasse g	Düngungsart
[) am	tion (pH	Real	iszahlen	Verhältniszahlen	n Trocken-	± gegen		The state of	- п		

Tabelle 2. Ernteorgebnisse des Wasserkulturversuches zu Futterrüben.

Natronsalpeter Natronsalpeter + Bor Chilesalpeter	Düngungsart	
$5.95^{1}) \pm 0.26$ $17.16 \pm 0.39$ $16.19 \pm 0.64$	trocken g	Rüben
, 1,97 ±4,0	thilese	en alpeter
86,50 12,62 12,29	Trocke	nmasse
16,90±1,06 17,11±0.79	trocken	Blätter
18'0 –	on + geg ('hiles	gen alpeter
13,95 15,29	rock Trock	rnmasse
3,50 3,91	trocken g	Wurzeln
- 0,±1	∞ ± ge	gen alpeter
9,08 11,63	rock.	enmasse
36,75 105,99 100,00 100,0	Rüben	Verh Chiles
98,77 100,00	Blatt	ältnisza ilpeter =
89,51 100,00	Wurzel	szahlen er == 100
6,15 6,22 6,48	29. Mai	Erge Rea messu
7,19 7,66 7,50	29. Juni	bnisse caktions
30,71	23. Juli	2 4 d

Tabelle 3. Ernteergebnisse des Wasserkulturversuches zu Stoppelrüben.

$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	Düngungsart Küben Chile- Irocken salpeter masse trocken salpeter g g g %, g g %,	+ gegen m
- 2,42 - 2,42 - 2,42 - 2,42 - 2,42 - 2,01		믜
7,92 11,23 20,04 10,80 13,50 17,71	masse	
$\begin{array}{c} 7,78 \pm 0,32 \\ 9,59 \pm 0,41 \\ 15,27 \pm 0,60 \\ 6,71 \pm 0,34 \\ 10,33 \pm 0,40 \\ 8,55 \pm 0,40 \end{array}$	trocken g	Dlätt
- 7,19 - 5,68 - 8,56 - 1,91 - 6,72	Chile- salpeter g	+ gegen
25,89 27,15 37,60 34,19 24,76 27,76	masse	Twoken.
17,31 33,52 100,00 27,27 43,96 78,02	Rüben	Verhältnisz
	Blä	isza
50,95 62,80 100,00 43,94 67,65 55,99	tter	hlen
50,95 6,40 62,80 6,43 100,00 6,39 43,94 6,23 67,65 5,71 55,99 6,21	4.Sep- tember	hlen Reak
	4. September 27. September	hlen Reaktion (pH

18. Juli: Zwischen den Rüben der Düngungsarten Chilesalpeter und Natronsalpeter + Bor besteht in der Entwicklung und im Aussehen kein Unterschied.

Die Ernte fand am 23. Juli statt, wobei die in Tabelle 2 aufgezeichneten Ergebnisse erhalten wurden (Abb. 1). Infolge der stark auftretenden Herz- und Trockenfäule konnte bei Natronsalpeter allein nur das Gesamtgewicht von Rüben, Blättern und Wurzeln festgestellt werden. Der Minderertrag gegenüber den beiden anderen Düngungsarten ist ungewöhnlich hoch und fehlerkritisch vollkommen gesichert. Die Unterschiede an Rübentrockenmasse zwischen Chilesalpeter und Natronsalpeter + Bor sind gering und fehlerkritisch nicht gesichert, so daß die beiden Düngungsarten als einander gleichwertig angesehen werden müssen. Das Gleiche ist hinsichtlich des Blattertrages der Fall. Ebenso ist der Minderertrag an Wurzeltrockenmasse bei Natronsalpeter + Bor gegenüber Chilesalpeter fehlerkritisch nicht gesichert.

## III. Versuch zu Stoppelrüben.

# 1. Versuchsplan.

- a) Grundlösung mit Natronsalpeter
- b) Grundlösung mit Natronsalpeter + äquivalenter Bormenge wie im Chilesalpeter (0,174%), B)
- c) Grundlösung mit Chilesalpeter
- d) Grundlösung mit Natronsalpeter + 0,04 % Bor
- e) Grundlösung mit Natronsalpeter + 0,08 % Bor
- f) Grundlösung mit Natronsalpeter + 0,12 % Bor.

# 2. Versuchsgrundlagen.

Zu den Versuchen wurden 4-Liter-Gefäße verwendet, die je eine Pflanze trugen. Jede Düngungsart umfaßte zehn Gefäße. Als Nährlösung diente das gleiche Substrat wie bei den anderen Versuchen, die Stickstoffgabe betrug 0,3 g N je Liter Lösung. Die Borgaben wurden diesmal in einer weiteren Staffelung beigegeben, so daß also die im Chilesalpeter an und für sich enthaltene Bormenge bei der Düngungsart Natronsalpeter + Bor die vierfache Borgabe bedeuten würde. Die Rüben wurden am 4. September in die Lösung übertragen. Die Lösung wurde am 28. September vollständig erneuert.

Die Rüben wuchsen gut an und entwickelten sich besonders nach der Erneuerung der Lösung ganz ausgezeichnet. Wenngleich keinerlei Auftreten von Herz- und Trockenfäule festzustellen war, so blieben doch die Rüben in Natronsalpeter allein deutlich gegen die Pflanzen der übrigen Gruppen zurück. Die Pflanzen in Natronsalpeter + Bor äquiv. konnten jedoch die Chilesalpeterpflanzen bei weitem nicht erreichen. Die Rüben in den Düngungsarten mit steigenden Borgaben nahmen in ihrer Entwicklung mit Zunahme der Borgaben ebenfalls etwas zu; hinsichtlich der Blattaus-

bildung war die Düngungsart Natronsalpeter + 0,08 % Bor am besten. Die Blätter sämtlicher Pflanzen dieser Düngungsarten waren wesentlich heller gefärbt als die Blätter der Pflanzen mit Chilesalpeter. Bei der Ernte am 16. Oktober wurden die in Tabelle 3 aufgezeichneten Ergebnisse erhalten (Abb. 2). Daraus ist zu entnehmen, daß der Trockensubstanzgehalt der Rüben mit Chilesalpeter an sich ungewöhnlich hoch und zugleich der größte von allen Düngungsarten ist. Mit steigenden Borgaben nimmt der Trockensubstanzgehalt der Rüben deutlich zu und erreicht mit 0,12% Bor nach Chilesalpeter den Höhepunkt. Auffällig ist, daß bei Düngungsart Natronsalpeter + Bor äquiv. der prozentische Trockensubstanzgehalt sehr niedrig ist und im Vergleich zu den übrigen Düngungsarten mit steigenden Borgaben ganz aus der Reihe fällt. Der niedrigste Trockensubstanzgehalt ist bei der Düngungsart Natronsalpeter festzustellen. Diese starken Verschiedenheiten drückten sich natürlich auch in der berechneten Trockenmasse der Rüben deutlich aus. Chilesalpeter steht weitaus an der Spitze,



die Mindererträge gegenüber dieser Düngungsart bei Natronsalpeter Natronsalpeter + Bor äquiv., Natronsalpeter + 0,04 % Bor sowie Natronsalpeter + 0,08 % Bor sind sämtlich fehlerkritisch gesichert. Der Minderertrag der Düngungsart Natronsalpeter + 0,12 % Bor mit 0,80 g liegt jedoch noch innerhalb der Fehlergrenzen. Der Ertrag an Blatt-Trockenmasse zeigt durch die Verschiedenheiten des prozentischen Trockensubstanzgehaltes sehr deutliche und große Unterschiede. Wiederum ist der Trockensubstanzgehalt der Blätter bei Chilesalpeter der höchste, er nimmt bei den Düngungsarten mit steigenden Borgaben bis zu einem gewissen Grade zu, ebenso steht der prozentische Trockensubstanzgehalt der Düngungsart Natronsalpeter + Bor mit den übrigen Düngungsarten in gewissem Einklang. Die höchste Blatt-Trockenmasse wurde durch Chilesalpeter erzielt, die Mindererträge sämtlicher übrigen Düngungsarten gegenüber Chilesalpeter sind fehlerkritisch gesichert.

Der nach der Methode Scharrer-Gottschall 1) bestimmte Borgehalt in den Futter- und Stoppelrüben ist aus Tabelle 4 ersichtlich.

<sup>1)</sup> K. Scharrer und R. Gottschall, Zeitschrift für Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde, 39, 178 (1935).

Tabelle 4.
Borgehalt (auf Trockensubstanz bezogen) bei den Wasserkulturversuchen 1934.

		Futterrüber	1
Düngungsart	Rüben	Blätter	Faserwurzeln
	γ º/ <sub>0</sub> B	γ º/ <sub>0</sub> B	γ °/ο Β
Grunddüngung + NaNO <sub>3</sub> + B Grunddüngung + Chilesalpeter	630 850	3300 2800	1700 1500
Stoppelrüb	en		
$\begin{array}{llllllllllllllllllllllllllllllllllll$	800 900 1400 750 3000 1700	1000 1500 1400 1500 1000 2000	

#### B. Gefäßversuche.

#### 1. Versuchsplan.

Bei sämtlichen Versuchen wurde folgender Versuchsplan eingehalten:

- 1. Grunddüngung (P + K)
- 2. Grunddüngung + Natronsalpeter
- 3. Grunddüngung + Natronsalpeter + Bor in äquivalenter Menge wie im Chilesalpeter
- 4. Grunddüngung + Natronsalpeter + Jod in äquivalenter Menge wie im Chilesalpeter
- 5. Grunddüngung + Natronsalpeter + Bor + Jod in jeweils äquivalenter Menge wie im Chilesalpeter
- 6. Grunddüngung + Chilesalpeter.

#### II. Versuchsgrundlagen.

Zu den Versuchen wurden 2 Lehmböden verwendet, und zwar ein saurer toniger Quartärdecklehmboden von Weihenstephan mit der pH-Zahl 5,63 und ein neutraler schwerer Lehmboden vom Landwirt Jositz in Neuhausen bei Freising mit einer pH-Zahl von 6,75. Auf jeder Bodenart wurde sowohl ein Versuch mit Zuckerrüben als auch mit Futterrüben angesetzt. Die Gefäße standen auf Wagen. Die Düngung betrug bei sämtlichen Versuchen einheitlich je Gefäß 3,0 g N als Chilesalpeter bzw. Natronsalpeter, 3,0 g K<sub>2</sub>O als 40 % iges Kalisalz und 2,0 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> als Rhenaniaphosphat. Da mit einer Gabe von 3,0 g N als Chilesalpeter 0,033 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> und 0,0026 g J verabreicht wurden, wurden diese bei den entsprechenden Düngungsarten mit Natronsalpeter gesondert zugegeben. Das Jod wurde dabei als NaJO<sub>3</sub> verabreicht. Jede Düngungsart umfaßte 6 bzw. 8 Gefäße. Jedes Gefäß trug eine Pflanze. Die näheren Anbaudaten sind aus Tabelle 5 ersichtlich.

#### III. Die Versuchsergebnisse.

- a) Versuche auf Lehmboden von Weihenstephan.
- 1. Versuch zu Zuckerrüben: Die am 26. April gesäten Rüben liefen sehr gleichmäßig auf. Ende Juni war die Stickstoffwirkung bereits

Tabelle 5. Anbaudaten bei den Gefäßversuchen zu Futter- und Zuckerrüben 1934.

002		II. DOL	anici u
Grunddingung (P + K) Gr. + Natronsalpeter Gr. + Natronsalpeter + Bor Gr. + Natronsalpeter + Jod Gr. + Natronsalpeter + Jod Gr. + Natronsalpeter + Bor + Jod Gr. + Chilesalpeter	Düngungsart		Ergebn
++++++++++++++++++++++++++++++++++++++	masse	Rüben- Trocken-	Tabelle 6. Ergebnisse des Gefäßversuches zu Znckerrüben auf Lehmboden von Weihenstophan
$\begin{array}{c} -105,91 \\ +103,06 \\ +89,99 \\ +100,04 \\ +106,38 \end{array}$	düngung g	+ gegen	Bversuche
25,21 24,56 24,42 24,94 23,81 24,16	- Trocker	ımasse	s zu Z
18,05 20,20 18,40 17,60 17,50 19,20	Zucker		Tabelle 6.
7,31 29,58 26,05 22,98 24,78 24,78	Absolut Zucker	e nenge	lle 6. Uben a
$\begin{array}{c} -1000000000000000000000000000000000000$	düngung g	士 gegen Grund-	uf Lehmbo
$8,33 \pm 0,46$ $8,464 \pm 2,51$ $40,74 \pm 0,74$ $83,43 \pm 1,70$ $83,78 \pm 2,21$ $87,41 \pm 2,49$	masse g	Blätter- Trocken-	den von Wei
+ 26,31 + 25,10 + 25,45 29,08	düngung g	± gegen Grund-	henstepha
15,20 15,07 15,20 13,70 13,46 13,83	- Trocker	nmasse	F
100,00 361,18 354,16 321,92 349,17 362,34	Rüben	Verl Gru	
100,00 404,65 356,36 314,36 338,99 385,90	Zucker- menge	hältniszi inddüng = 100	
100.00 415,85 489,68 401,32 405,52	Blätter ,	ahlen jung	

(		
Ī		
•		
,		

		vicht äß	ы	N-Gabe	P.05	P,05-Gabe	К,0	K <sub>2</sub> O-Gabe	Bor- und			
Versuchsfrucht	Sorte	Erdgev je Gef	je Gefäß g	als	je Gefäß g	als	je Gefäß	als	Jodgabe am	Saat	Auraur	prnee
Zuckerrüben W 8	Kleinwanz- lebener E	17,5	3,0	nen	9 2 9	 t	3,0	s	30. <b>Ma</b> i	-26. April	3. Mai	4. Okt.
Futterrüben W 9	Gelbe Ecken- dorfer Original	14,5	3.0	den nieden rmen	2,0	nania spha	3,0	, ige lisalz	30. Mai	26. April	3. Mai   4. Okt.	4. 0kt.
Zuckerrüben W 10	kleinwanz- lebener E	17,5	<b>3,</b> 0	ersch	2,0	Rhe	3,0	40 ° Ka	30. Mai	18. April	18. April 29. April 4. Okt.	4. Okt.
Futterrüben W 11	dorfer Original	14,5	3,0	v	고,0 -		3,0		30. Mai	14. April	14. April   20. April   4. Okt.	4. Okt.

sehr deutlich, die ohne N gebliebenen Zuckerrüben fielen durch die geringe Blattausbildung und die steile Blatthaltung auf. Die Farbe war heller. Zwischen den einzelnen Düngungsarten mit Stickstoff sowie Bor und Jod waren deutliche Unterschiede zu dieser Zeit noch nicht festzustellen. Gegen Mitte Juli waren die Unterschiede zwischen den stickstoffreien Rüben und jenen mit Stickstoffdüngung erheblich verstärkt. Den besten Stand zeigten die Rüben in Natronsalpeter + Bor + Jod. Die Rüben in Chilesalpeter sowie Natronsalpeter + Bor waren etwas zurück, ebenso die Rüben mit Natronsalpeter sowie mit Natronsalpeter + Jod. Im späteren Verlauf des Wachstums glichen sich die Unterschiede etwas aus, so daß, ausgenommen den etwas geringeren Stand der Rüben in Natronsalpeter + Jod, weitere deutliche Unterschiede mit Sicherheit nicht mehr festgestellt werden konnten.

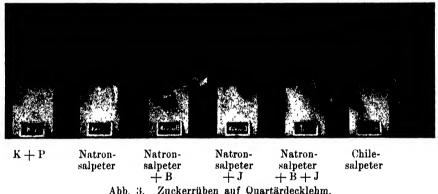
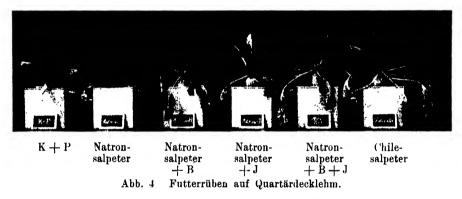


Abb. 3. Zuckerrüben auf Quartärdecklehm.

Bei der Ernte wurden die in Tabelle 6 zusammengestellten Ergebnisse erhalten (Abb. 3). Wie die Zahlen für Rübentrockenmasse zeigen, war die Stickstoffdüngung sehr wirksam und hat im großen Durchschnitt die Erträge um mehr als 350 % erhöht. Die Unterschiede sämtlicher Düngungsarten gegenüber Grunddüngung sind fehlerkritisch vollkommen gesichert. Dagegen können die Unterschiede der 5 Stickstoffdüngungsarten untereinander nicht als vollständig gesichert gelten. Dem absoluten Ertrag nach sind Chilesalpeter sowie bemerkenswerterweise Natronsalpeter einander gleichzusetzen. Um geringes zurück sind Natronsalpeter + Bor sowie Natronsalpeter + Bor + Jod, während mit deutlichem Abstand Natronsalpeter + Jod zuletzt folgt. Der prozentuale Zuckergehalt war bei Natronsalpeter sowie Chilesalpeter am höchsten. Bei den übrigen Düngungsarten ist eine deutliche Abnahme festzustellen. Diese Verschiedenheiten im prozentualen Zuckergehalt wirken sich demgemäß auch auf die absolute Zuckermenge aus. Wiederum stehen Natronsalpeter und Chilesalpeter vor den übrigen Düngungsarten. Was das Blattgewicht anlangt, so waren hier die Düngungsarten Natronsalbeter + Bor sowie

Chilesalpeter besser als die übrigen Düngungsarten. Auch hier sind die Unterschiede gegenüber Grunddüngung vollkommen fehlerkritisch gesichert.

2. Versuch zu Futterrüben: Die am 26.4. gesäten Rüben liefen sehr gleichmäßig auf. Bereits Anfang Juni war die deutliche Differenzierung im Stande der Rüben zu beobachten. Die Rüben in Grunddüngung waren deutlich zurück, in der Farbe etwas heller und zeigten steile Blatthaltung. Die Stickstoffwirkung war sehr deutlich, am besten war der Stand der Rüben in Chilesalpeter, dem die Rüben in Natronsalpeter + Bor wenig nachstanden. Hierauf folgte Natronsalpeter + Jod, darauf Natronsalpeter + Bor + Jod und dann Natronsalpeter allein. Die eben geschilderten Unterschiede waren anfangs Juli in wesentlich verstärktem Ausmaße zu beobachten. Die Rüben in Natronsalpeter allein zeigten bereits die Anfangssymptome der Herz- und Trockenfäule. Mitte



Juli hatte sich der Befall bei den Rüben mit Natronsalpeter ungemein verstärkt. Bei den Rüben mit Natronsalpeter + Bor begann auf zwei Gefäßen ebenfalls ein allerdings schwacher Befall mit Herz- und Trockenfäule. Die Rüben mit Natronsalpeter + Jod waren deutlich herz- und trockenfaul, die Rüben in Natronsalpeter + Bor + Jod gesund, ebenso die Rüben in Chilesalpeter.

Bei der Ernte wurden die in Tabelle 7 zusammengestellten Ergebnisse erhalten (Abb. 4). Hier ist beim Rübenertrag die Differenzierung wesentlich deutlicher als bei den Zuckerrüben, und es sind entsprechend dem Krankheitsbefall die niedrigsten Erträge (außer Grunddüngung) bei Natronsalpeter + Jod sowie Natronsalpeter allein festzustellen. Die Stickstoffwirkung an sich war deutlich besser als bei den Zuckerrüben; so hat die Chilesalpeterzugabe den Rübenertrag gegenüber Grunddüngung um mehr als das fünffache erhöht. Die besten Erträge wurden durch Chilesalpeter sowie Natronsalpeter + Bor erzielt. Dann folgt etwas zurück Natronsalpeter + Bor + Jod, in weiterem Abstand folgt Natronsalpeter allein sowie Natronsalpeter + Jod. Im prozentualen Zuckergehalt steht diesmal Grunddüngung an der Spitze, dann folgen Natronsalpeter allein sowie

Chilesalpeter; der niedrigste Zuckergehalt ist bei Natronsalpeter + Jod festzustellen. Die höchste absolute Zuckermenge erzielte Chilesalpeter sowie Natronsalpeter + Bor, die niedrigste Grunddüngung sowie Natronsalpeter + Jod. Das Blattgewicht wurde am besten durch Natronsalpeter + Bor + Jod beeinflußt.

- b) Versuche auf Lehmboden von Neuhausen.
- 1. Versuch zu Zuckerrüben: Die Rüben entwickelten sich sehr gut; anfangs Juni war die erste Wirkung des Stickstoffs in einem deutlichen Zurückbleiben der Grunddüngungsrüben zu beobachten. Gegen Ende Juni konnte festgestellt werden, daß die Rüben in Chilesalpeter den besten Stand zeigten, denen Natronsalpeter + Bor, Natronsalpeter + Jod und Natronsalpeter + Bor + Jod sowie Natronsalpeter, untereinander

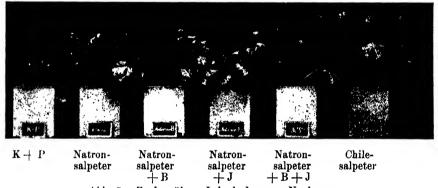


Abb. 5. Zuckerrüben, Lehmboden von Neuhausen.

gleich, folgten. Gegen Mitte Juli fiel der gute Stand besonders hinsichtlich der Blattentwicklung der Rüben in Natronsalpeter + Bor auf. Der Wuchs dieser Pflanzen war langgestreckt, die Farbe der Blätter dunkelgrün.

Bei der Ernte wurden die in Tabelle 8 zusammengestellten Ergebnisse erhalten (Abb. 5). Die besten Rübenerträge brachten Natronsalpeter sowie Chilesalpeter, "dann folgen etwas zurück Natronsalpeter + Bor sowie Natronsalpeter + Bor + Jod. Natronsalpeter + Jod blieb sehr deutlich zurück. Der prozentuale Zuckergehalt wurde am günstigsten durch Natronsalpeter sowie Natronsalpeter + Bor beeinflußt. Demgemäß erbrachten die höchste absoluté Zuckermenge Natronsalpeter, Chilesalpeter und Natronsalpeter + Bor. Ebenfalls sehr deutliche Unterschiede waren beim Blattgewicht zu beobachten. Weitaus das höchste Blattgewicht brachten die Pflanzen in Natronsalpeter + Bor, dann folgen etwas zurück Natronsalpeter und Chilesalpeter.

2. Versuch zu Futterrüben: Die Stickstoffwirkung war hier schon anfangs Juni wesentlich stärker als bei den Zuckerrüben. Zwischen den einzelnen Stickstoff-Formen waren Unterschiede zu dieser Zeit nicht

030	n. Schaffer und	w. венгорр:	
Grunddüngung (P + K) Gr. + Natronsalpeter	Grunddingung (P + K) Gr. + Natronsalpeter Gr. + Natronsalpeter + Bor	Grunddüngung (P+K)	Düngungsart
Ergebnisse der Gefäßversuches zu  27,71 ± 1,35 24,66 ± 1,28 3,05 133,58 ± 7,13 105,87 12,36 37,53 ± 3,57 3,66 ± 5,80 136,66 ± 5,80 108,95 11,84 12,45	Ergebnisse 50,92± 2,31 168 86± 5,09 161,26±10,30 118,22± 9,03 158,17± 5,54 166,04± 2,95	19,76 ± 1,49 19,76 ± 1,49 85,87 ± 4,40 100,77 ± 8,79 79,98 ± 5,88 96,05 ± 2,54 101,13 ± 3,81	Rüben- Trocken- masse
- 3,05 - 3,05 - 105,87 + 94,71 + 108,95	des Gefä + 117,94 + 115,34 + 68,30 + 115,725	# 66,11 + 81,01 + 60,22 + 76,29 + 81,37	+ gegen Grund- düngung
hes zn 12,36 12,36 12,36 11,84 11,84 11,84	82,82 13,43 14,82 14,82 14,82 15,83 16,83 18	13,10 13,10 13,10 13,20 13,88 13,88	~ Trockenmasse
	Tabelle 8  ches auf L  18,98   9,6  20,05   33,8  18,68   22,2  18,68   29,5  18,68   21,0	Tabelle 7 ntterriben 11,38   2,22 8,40   7,21 8,02   8,02 6,27   5,01 7,90   7,53 8,35   8,4	≈ Zucker
Fabelle 9.  Futterriben auf 9,40   2,60 1,35   0,33   - 1,43   - 3,80   1,43   - 3,80   9,43   + 8,40   11,48   +	1e 8. 9,66 38,86 30,72 99,55 31,02	le 7. lben ar 2,25 7,21 8,08 5,01 5,01 8,44	Absolute Zuckermenge
anf Lehm + 6,83 + 6,83	mboden vc 	+++1,96 ++2,76 +6,19	± gegen Grund- düngung
Lehmboden von Nenhausen.    8,78 ± 0,43   9,91	Tabelle 8.   Frgebnisse des Gefäßversuches auf Lehmboden von Neuhausen. $11,68 \pm 0,69$ $11,69 \pm 2,31$ $11,69 \pm 2,23$	Ergebnisse des Gefäßversuches zu Futterrilben auf Lehmboden von Weihenstephan- $ \begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	Blätter- Trocken- masse
+ 9,91 + 21,35 + 21,39 + 21,39 + 26,69	+++++ + 26,15 53	+ 1,29 + 7,02 + 8,10 + 9,04 + 7,87	+ gegen Grund- düngung
17,35 42,39 19,05 35,21 21,18 21,28	16,83 19,00 21,30 16,14 17,93 16,27	3,58 5,50 4,98 4,07 4,07	Trockenmasse
100,00 90,30 182,06 134,72 441,79 493,18	100,00 331,62 316,69 316,69 234,13 326,08	100,00 134,56 509,97 404,76 486,08 511,79	Rüben Verl
100,00 116,15 55,00 362,69 441,54	100,00 350,51 318,01 230,54 305,95 321,12	100,00 6 820,44 7 359,11 6 222,67 8 337,33	Zucker- menge Blätter
100,00 212,87 343,17 290,32 403,99	100,00 380,66 502,06 276,54 823,88 844,26	100,00 242,05 332,45 368,21 399,33	Blätter S g

festzustellen. Anfang Juni trat die Herz- und Trockenfäule in ungewöhnlich starkem Ausmaße bei den Rüben in Natronsalpeter sowie Natronsalpeter + Jod auf. Im Gegensatz hierzu entwickelten sich die Rüben in Natronsalpeter + Bor, in Natronsalpeter + Bor + Jod und Chilesalpeter ausgezeichnet und waren vollkommen gesund. Der beste Stand dürfte bei Chilesalpeter sowie Natronsalpeter + Bor vorhanden sein. Bei den herzund trockenfaulen Rüben ist das besonders starke Welken hervorzuheben, die Blätter zeigen teilweise große braune Gewebezerstörungen und eine deutliche Hellerfärbung. Der starke Krankheitsbefall drückt sich auch in den Ernteergebnissen in Tabelle 9 aus (Abb. 6). Demnach war der Ertrag an Rübentrockenmasse bei Natronsalpeter allein niedriger als der von Grunddüngung. Die höchsten Rübenerträge wurden durch Chilesalpeter sowie Natronsalpeter + Bor erzielt. Etwas zurück steht Natron-

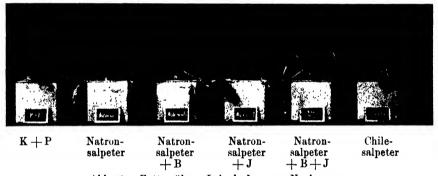


Abb. 6. Futterrüben, Lehmboden von Neuhausen.

salpeter + Bor + Jod, während die Düngungsart Natronsalpeter + Jod ungemein stark abfällt. Der prozentuale Zuckergehalt zeigte deutliche Unterschiede; den höchsten Zuckergehalt weisen Grunddüngung, Chilesalpeter sowie Natronsalpeter + Bor auf. Bei Natronsalpeter + Jod ist eine außerordentlich starke Depression des Zuckergehaltes festzustellen, während bei Natronsalpeter allein der Zuckergehalt noch weiter zurück steht und nur mehr 1,35 % beträgt. Die absolute höchste Zuckermenge wurde wiederum durch Chilesalpeter und Natronsalpeter + Bor erzielt. Ähnliche Verhältnisse liegen hinsichtlich des Blattgewichtes vor. Das höchste Blattgewicht wurde durch Chilesalpeter, dann durch Natronsalpeter + Bor + Jod und durch Natronsalpeter + Bor erzielt.

In Tabelle 10 sind die Ergebnisse der Reaktionsmessungen sämticher Böden nach Versuchsabschluß zusammengestellt.

In Tabelle 11 sind die Borgehalte der Rübenblätter und Rübenwurzeln verzeichnet. Durch die zusätzlichen Borgaben zu Natronsalpeter bzw. zu Chilesalpeter erfolgte vielfach eine Erhöhung des Borgehaltes im Vergleich zum Natronsalpeter allein, wobei die Anreicherung des Bors

Tabelle 10.

Ergebnisse der Reaktionsmessungen bei Gefäßversuchen zu Zucker-und Futterrüben.

Düngungsart	Zuckerrüben, Lehmboden von Weihen- stephan pH am 5.10.	Futterrüben, Lehmboden von Weihen- stephan pH am 5.10.	Lehmboden von N euhausen	Futterrüben, Lehmboden von Neuhausen pH am 5. 10.
Grunddüngung (P + K)	6,14	6,26	7,18	7,31
Grunddüngung + Natronsalpeter. Grunddüngung + Natronsalpeter	6,30	6,12	6,80	7,30
+Bor	6,06	6,10	6,89	7,19
+ Jod	6,25	6,14	6,99	7,35
+ Bor + Jod	6,24	6,10	6,89	7,08
+ Bor + Jod	6,16	6,23	6,80	7,10

Tabelle 11.
Borgehalt (auf Trockensubstanz bezogen) bei den Gefäßversuchen zu Rüben.

Düngungsart	auf I von V	Zuckerrüben auf Boden von Weihen- stephan		Futterrüben auf Boden von Weihen- stephan		Zuckerrüben auf Boden von Neuhausen		Futterrüben auf Boden von Neuhausen	
	Rühen	Blätter	Rüben	Blätter	Rüben	Blätter	Rüben	Blätter	
	γ º/ <sub>0</sub> B	γ º/ <sub>0</sub> B	γ º/ <sub>0</sub> B	γ °/ <sub>0</sub> B	γ <sup>0</sup> / <sub>0</sub> Β	γ º/o B	γ º/0 B	γ º/ <sub>n</sub> Β	
Grunddüngung	800	3600	1200	420	700	3500	1000	1600	
Grunddüngung + NaNO <sub>8</sub>	500	4500	1200	840	800	3100	1100	1000	
Grunddüngung + NaNO <sub>8</sub> + B	900	5400	1200	2400	950	3000	1100	3300	
$Grunddüngung + NaNO_3 + J$	1000	3900	900	1000	700	3300	900	900	
Grunddüngung + NaNO <sub>3</sub>		i							
+ Bor $+$ Jod	700	2500	1400	1600	900	5100	700	3300	
Grunddüngung + Chile- salpeter	800	4500	700	3800	650	4300	1200	2000	

in den Blättern im allgemeinen stärker ist als bei den Rüben. Aber auch an und für sich ist der natürliche Borgehalt der Blätter höher als derjenige der Rüben. Vielfach enthielten die gesunden Pflanzen mehr Bor in den Wurzeln und Blättern als die kranken.

#### Zusammenfassung.

- 1. Um die Wirkung des Bors in Düngemitteln für sich allein und in Kombination mit Jod zu prüfen, wurde in Wasserkultur Mais einerseits in einer Grundlösung + Natronsalpeter + Jod, andererseits in einer Grundlösung + Chilesalpeter gezogen. Es ergab sich, daß der Ernteertrag sowohl im Sproß- als auch im Wurzelgewicht in beiden Fällen in gleichem Maße beeinflußt wurde.
- 2. Zur Feststellung, ob das in gewissen Düngemitteln vorhandene Bor auf das Wachstum von Rüben eine günstige Wirkung ausübt, wurden

Futterrüben einerseits in einer Grundlösung + Natronsalpeter, andererseits mit Natronsalpeter + Bor bzw. mit Chilesalpeter angesetzt. In der Lösung mit Natronsalpeter allein waren die Rüben stark herz- und trockenfaul, während in der Lösung mit Natronsalpeter + Bor bzw. Chilesalpeter die Rüben sich vollkommen gesund entwickelten. Demgemäß war auch der Ernteertrag in der Lösung mit Natronsalpeter allein gegen denjenigen der beiden anderen Lösungen entsprechend vermindert. Zwischen den Erträgen von Natronsalpeter + Bor bzw. Chilesalpeter ist fehlerkritisch kein Unterschied vorhanden, und zwar sowohl im Rüben- als auch im Blattgewicht.

- 3. Zur weiteren Beantwortung der erörterten Problemstellung wurden Stoppelrüben in einer Grundlösung mit Natronsalpeter, ferner mit Chilesalpeter, mit Natronsalpeter + äquiv. Bormenge wie im Chilesalpeter und weiterhin mit Natronsalpeter + steigenden, jedoch absolut geringeren Bormengen als im Chilesalpeter gezogen. Sowohl im Rüben- als auch im Blattertrag stand der Chilesalpeter an erster Stelle, während Natronsalpeter für sich allein den niedrigsten Rübenertrag brachte. Im allgemeinen war festzustellen, daß mit steigenden Borgaben der Ertrag an Rübentrockenmasse und auch an Blatt-Trockenmasse anstieg, wobei allerdings die höchste (äquivalente) Borgabe im Rübenertrag merkwürdigerweise aus der Reihe fiel.
- 4. Im Sinne der Fragestellung wurden weiterhin Gefäßversuche auf zwei Lehmböden zu Zucker- und Futterrüben durchgeführt, wobei zur Grunddüngung einerseits Chilesalpeter, andererseits Natronsalpeter allein, Natronsalpeter + Bor äquiv. wie im Chilesalpeter, Natronsalpeter + Jod äquiv. wie im Chilesalpeter und Natronsalpeter + Bor äquiv. + Jod verabreicht wurde.
- 5. Bei Zuckerrüben auf einem tonigen Lehmboden von Weihenstephan mit saurer Reaktion war die Wirkung der Stickstoffdüngung an und für sich außerordentlich durchschlagend und erbrachte fast das vierfache der Rübentrockenmasse im Vergleich zur Grunddüngung. Zwischen den Erträgen der mit Chilesalpeter und Natronsalpeter gedüngten Rüben waren keine Unterschiede vorhanden, und auch die Unterschiede im Ertrag der übrigen Düngungsarten waren fehlerkritisch nicht gesichert. Der prozentuale Zuckergehalt war bei Natronsalpeter und Chilesalpeter am höchsten. Eine Erkrankung der Rüben war nirgends zu beobachten.
- 6. Zu Futterrüben auf dem gleichen Lehmboden von Weihenstephan war ebenfalls eine hervorragende Stickstoffwirkung festzustellen, die sogar noch die zu Zuckerrüben etwas übertraf. Die Rüben auf Natronsalpeter und Natronsalpeter + Jod ließen die Krankheitserscheinungen der Herz- und Trockenfäule erkennen und daher zeigten sie auch nach der Grunddüngung den niedrigsten Ertrag an Rübentrockenmasse, während den höchsten Chilesalpeter und Natronsalpeter + Bor erbrachten. Die niedrigste absolute

Zuckermenge wurde (außer Grunddüngung) durch Natronsalpeter + Jod, die höchste durch Chilesalpeter und Natronsalpeter + Bor erzielt.

- 7. Zu Zuckerrüben auf einem schweren Lehmboden von Neuhausen mit neutraler Reaktion war kein Auftreten der Herz- und Trockenfäule zu beobachten. Die größten Erträge an Rübentrockenmasse wurden durch Natronsalpeter allein und Chilesalpeter erzeugt, welche Düngungsarten auch die höchsten absoluten Zuckermengen erbrachten.
- 8. Auf dem gleichen Lehmboden von Neuhausen trat bei den Futterrüben die Herz- und Trockenfäule bei der Düngung mit Natronsalpeter sowie Natronsalpeter + Jod außerordentlich stark auf. Vollkommen gesund blieben die Futterrüben mit Natronsalpeter + Bor, Natronsalpeter + Bor Jod und Chilesalpeter. Dementsprechend wurde der höchste Ertrag an Rübentrockenmasse durch Chilesalpeter und Natronsalpeter + Bor, der niedrigste durch Natronsalpeter erzielt, welch letzteres Düngemittel hier sogar hinter Grunddüngung trotz der sonst glänzenden Stickstoffwirkung zurückstand. Auch der Ertrag von Natronsalpeter + Jod war sehr gering. Chilesalpeter und Natronsalpeter + Bor erzeugten auch die höchste Blatt-Trockenmasse und die größte Zuckermenge.
- 9. Aus den Reaktionsmessungen ergab sich, daß die Herz- und Trockenfäule bei Futterrüben auf dem Lehmboden von Weihenstephan auch bei nicht alkalischer (schwach saurer) Reaktion auftrat, was die diesbezügliche Feststellung Brandenburgs<sup>1</sup>) glänzend bestätigt.
- 10. Bei den Gefäßversuchen mit Zucker- und Futterrüben fand durch Zufuhr von Bor in den meisten Fällen eine Boranreicherung in der Pflanzensubstanz statt. Der Borgehalt der Blätter ist höher als derjenige der Rüben. Die gesunden Pflanzen enthielten vielfach mehr Bor in den Wurzeln und Blättern als die erkrankten.
- 11. Betrachtet man die Versuche insgesamt, so ist überall dort, wo das Auftreten der Herz- und Trockenfäule bei den Rüben zu beobachten war, eine günstige Wirkung des Bors festzustellen.
- 12. Wie schon in früheren Versuchen erwiesen sich auch hier die Futterrüben bedürftiger an Bor als die Zuckerrüben, und die Herz- und Trockenfäule trat bei ihnen stärker und häufiger auf als bei diesen Pflanzen.
- 1) E. Brandenburg, Angewandte Botanik, 13, 453 (1931). Phytopathologische Zeitschrift, 3, 499 (1931). Angewandte Botanik, 14, 194 (1932).

# Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Botanik Braunschweig-Gliesmarode.

(Arbeitsgemeinschaft Biologische Reichsanstalt - Botanisches Institut Braunschweig.)

### Untersuchungen über erbliche Blattnekrosen des Weizens.

Von

#### W. Straib.

Mit 10 Textabbildungen.

Inhalt: I. Einleitung. — II. Auftreten der Erkrankungen und Symptome im Gewächshaus: a) Blattnekrosen bei 21-chromosomigen Weizen; b) Blattnekrosen bei 14-chromosomigen Weizen. — III. Anatomische und chemische Veränderungen des Weizenblattes durch erbliche Nekrosen: a) Anatomisches; b) Chemische Veränderungen. — IV. Beziehungen zwischen äußeren Faktoren und Nekrose: a) Erreger? h) Temperatur; c) Licht; d) Mineralsalzernährung; e) Kohlensäure. — V. Auftreten der Krankheit im Freiland. — VI. Einfluß erblicher Nekrosen auf den Ertrag der Weizenpflanze. — VII. Veränderungen im Typus der Rostinfektion durch erbliche Nekrosen. — VIII. Vererbung; a) Kreuzungsmaterial; b) F<sub>1</sub>-Generation; c) F<sub>2</sub>-Generation; d) F<sub>3</sub>-Generation. — IX. Diskussion der Ergebnisse. — X. Zusammenfassung. — XI. Zitierte Literatur.

#### I. Einleitung.

Im Verlaufe unserer Getreiderostuntersuchungen wurden wir auf Nekrosen des Weizenblattes aufmerksam, die zunächst dadurch unser Interesse beanspruchten, daß sie in einzelnen Fällen zu Störungen in der Beurteilung von Rostinfektionsergebnissen führten. Es handelt sich dabei, wie sich herausstellte, ausschließlich um nichtinfektiöse, erbliche Anomalien im Entwicklungsablauf einiger Weizenvarietäten, die unter dem Einfluß einer bestimmten Konstellation der Außenfaktoren mehr oder weniger stark zur Entwicklung gelangen. Die an den verschiedenen Weizenvarietäten beobachteten konstitutionell bedingten Blattnekrosen betiehen keinen einheitlichen Typus dar. Wenn sie trotzdem in der vorliegenden Mitteilung unter derselben Bezeichnung zusammengefaßt werden, so erscheint uns dies durch die Tatsache gerechtfertigt, daß die phänotypischen Unterschiede sich vielfach, besonders im Freiland, verwischen, und daß die Nekrosen ausnahmslos durch innere, vererbbare Faktoren ausgelöst sind.

Scheinbar ähnliche Krankheitserscheinungen haben Emerson (10) bei Mais als "blotch leaf" und Ferdinandsen und Winge (12) unter

<sup>1)</sup> Wir folgen hier der von Correns (7) gegebenen Definition. Vergleiche auch K. O. Müller (37, S. 4 ff.).

derselben Bezeichnung beim Hafer beschrieben und in genetischer Hinsicht untersucht. Bei Gerste hat kürzlich Christensen (3) verschiedenen Typen von "leaf spot" seine Aufmerksamkeit zugewandt. Ob es sich bei den durch die eben genannten Autoren untersuchten Blatterkrankungen um analoge Erscheinungen handelt, läßt sich nicht mit Bestimmtheit entscheiden, weil die Untersuchung des Krankheitsphänomens bei den einzelnen Versuchsanstellern in verschiedener Richtung läuft. Als Parallelfall kann bei Dikotyledonen noch die von Correns (6) bei der Mirabilis Jalapa eingehend untersuchte "Sordago" zum Vergleich herangezogen werden, wenn auch gerade hierbei deutliche entwicklungsgeschichtliche Unterschiede zu den auf Gramineen beobachteten Blattflecken, die in der verschiedenen systematischen Stellung der untersuchten Pflanzenart begründet zu liegen scheinen, vorhanden sind.

Wir können die von uns nachfolgend zu beschreibenden Blatterkrankungen des Weizens in gewissem Grade mit dem Dörrfleckentypus der Getreidearten vergleichen, und es war deshalb auch zu untersuchen, inwieweit Beziehungen zwischen beiden Krankheiten bestehen.

Die neue Art einer Blatterkrankung des Weizens ist bisher noch nicht beschrieben, soweit die uns zur Kenntnis gelangte Literatur Anspruch auf Vollständigkeit erheben darf. Das Studium dieser Erkrankung war zunächst im Interesse der Sicherung der Ergebnisse von Gelbrostinfektionen erforderlich. Nachdem ihr erblicher Charakter geprüft war, konnten sich einige Versuche zur Klärung genetischer Fragen anschließen. Eine exakte genetische Analyse erwies sich indessen erst durchführbar, als der Einfluß verschiedener Außenfaktoren, vor allem der Temperatur, des Lichtes, der Mineralsalz- und Kohlensäureernährung auf das Zustandekommen und die Ausdehnung der Blattflecken und -nekrosen genügend geklärt war. Diese Prüfung zeigt ihre Bedeutung nicht nur für die genetische Analyse, sondern sie gestattet auch eine Abgrenzung der verschiedenen Typen erblicher Nekrosen des Weizenblattes gegeneinander. Inwieweit die genetische Analyse selbst noch hierzu herangezogen werden kann, soll in dieser Arbeit nicht mehr entschieden werden.

Durch die Bezeichnung Nekrose (im Sinne Küsters, 31, S. 380), die sich in erster Linie auf das Endstadium der Blatterkrankungen bezieht, wird gleichzeitig eine begriffliche Trennung von den Chlorophylldefekten und -abnormitäten bei Mono- und Dikotyledonen vorgenommen, die u. a. als striata-, albino-, albomaculata-, aurigo-Typus von zahlreichen Autoren in verschiedener Richtung, vor allem genetisch und entwicklungsgeschichtlich untersucht wurden (Neuere Literatur vergl. Link, 32; Müller, 37).

Bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt konnte nur ein Teil der mit den erblichen Blattnekrosen des Weizens in Verbindung stehenden Fragen experimentell geprüft werden. Wir beschränken uns in der vorliegenden Mitteilung vorwiegend auf die ausführliche Untersuchung der erblichen Nekrose eines *vulgare*-Weizens, weil wir bei diesem Fall bereits über mehrjährige Versuchsbeobachtungen im Felde und im Gewächshaus verfügen.

Herrn Professor Dr. Gaßner spreche ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus für die mir zuteil gewordenen Förderungen; Fräulein Ohsenkopp bin ich für die Herstellung des Bildermaterials sehr zu Dank verpflichtet.

#### II. Auftreten der Erkrankungen und Symptome im Gewächshaus.

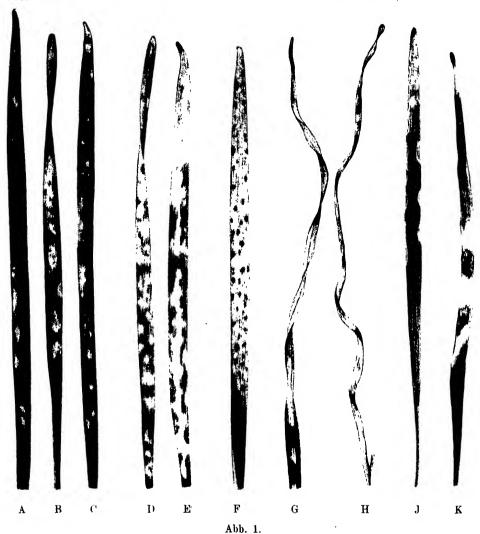
#### a) Blattnekrosen bei 21-chromosomigen Weizen.

Zum ersten Male traten uns Pflanzen mit charakteristischen Blattflecken und Nekrosen bei einer Aussaat mit Originalsaatgut des vulgare-Weizens Heines Kolben aus der Ernte 1928 entgegen. Die betreffende Aussaatreihe vom 27. Februar 1929 mit insgesamt 1376 Pflanzen war zunächst für Rostinfektionsversuche bestimmt. Nach Impfung mit dem Gelbroststamm Schlanstedt I (= Rasse 4 nach Gaßner und Straib, 23), gegen den Kolbenweizen bei Temperaturen von 12-20° C hoch resistent ist, wurden einige Pflanzen gefunden, die einen von der Hauptmasse der übrigen Pflanzen abweichenden Nekrosetypus aufwiesen. Es entstand die Frage, ob es sich hierbei um genotypisch fixierte Reaktionsunterschiede handelte, oder ob die Unterschiede auf äußeren Faktoren, sei es Impfmethodik oder Entwicklungsstadium beruhten. Eine genotypische Fundierung der abweichenden Infektionstypen konnte deshalb vermutet werden, weil derselbe Weizen auch einzelne gegen Rostrasse 4 hoch anfällige Pflanzen abspaltete, ebenso wie er sich auch bezüglich anderer physiologischer Eigenschaften (Anthozyanbildung der Koleoptilen) nicht als homozygotisch erwies. Zur Klärung der Frage wurden Pflanzen mit verschiedenen Nekrosetypen am 26. März 1929 auf dem Versuchsfelde Gliesmarode auspikiert und am 19. August geerntet.

Die Prüfung der Nachkommenschaft führte zu dem erwarteten Ergebnis und zeigte genotypische Fundierung der Neigung zu stärkerer Nekrosebildung einzelner Pflanzen nach Infektion mit Puccinia glumarum, Rasse 4. Die Ursache lag jedoch in ganz anderer Richtung, als zunächst zu vermuten war. Die nicht geimpften Kontrollpflanzen der stärker nekrotischen Linien zeigten nämlich ebenfalls Flecken- und Nekrosebildung, fast in übereinstimmendem Typus wie nach der Infektion mit Gelbrost, während die Nachkommenschaften der gesunden Linie ungeimpft zur gleichen Zeit gesund blieben. Die verstärkte Nekrosebildung nach Gelbrostinfektion war also nicht allein auf die Infektion zurückzuführen, sondern beruhte in konstitutionell bedingten Degenerationserscheinungen des Blattes.

;

Die Krankheitssymptome gestalteten sich in diesen Versuchen, deren Bedingungen, wie sich später herausstellte, für das Auftreten der Erkrankungen optimal waren, folgendermaßen: Bei einer Anzuchttemperatur der Pflanzen von 12°C bis 15°C bemerken wir etwa vier Wochen nach



Verschiedene Flecken- und Nekrosetypen von Kolbenlinie XI-2 (1. Blatt) und von Stolls Weizen im Gewächshaus. (Natürliche Größe.)

- A, B, C Anfangsstadien (leichte Aufhellung, weißlich gelbe Tönung).
- D, E Vorgeschrittene Stadien (Ausgedehnte, teilweise scharf gegen das grüne Blattgewebe abgegrenzte gelbbraune Zonen).
- F Weiter vorgeschrittenes Stadium (Grüne Inseln im gelb verfärbten Blatt).
- G, H Endstadium (Blattspreite stirbt ab).
- J Randnekrosen (Vereinzelt im Winter auftretender Typus).
- K Nekrotisches Blatt von Stolls Weizen (Endstadium).

der Aussaat, also 3 Wochen nach Beginn des Auflaufens, zerstreut liegende hellgrüne Tüpfel und Flecken, die sich in den folgenden Tagen langsam ausdehnen und allmählich eine gelbliche Tönung erreichen (Abb. 1, A—C). Die dadurch entstehende Sprenkelung oder Marmorierung der Blattspreite ist auf Ober- und Unterseite des Blattes in gleicher Weise sichtbar. Die Flecken verschmelzen langsam (Abb. 1, D—E), sodaß etwa zehn Tage nach Beginn der ersten Verfärbungen nur noch einzelne grüne Inseln im sonst braungelb verfärbten Blatt zurückbleiben (Abb. 1, F). Auch diese verschwinden allmählich; 14 Tage nach Sichtbarwerden der ersten Verfärbungen ist der größte Teil des Blattes, mit Ausnahme eines kurzen Stückes an der Basis, vollständig braungelb verfärbt (Abb. 1, G). Zum



Abb. 2. Normale (rechts) und nekrotische Linie (links) von Kolbenweizen. (Erstes Blatt der nekrotischen Linie größtenteils abgestorben.)

gleichen Zeitpunkt sinken die Gewebe an den zuerst erkrankten Stellen des Blattes ein und schrumpfen zusammen, andere Teile des Blattes folgen, sodaß allmählich der größte Teil der Blattspreite vertrocknet und abstirbt (Abb. 1, H; Abb. 2). Kurz vorher beginnen auch auf dem zweiten Blatt Fleckenbildungen einzusetzen, denen die Obliteration der Gewebe in derselben Weise wie beim ersten Blatt folgt. Den gleichen Vorgang beobachten wir später beim dritten Blatt. Die nachfolgenden Entwicklungsstadien wurden im Gewächshaus wegen der damit verbundenen Mehltaugefahr nicht weiter beobachtet, da die Gewächshäuser in erster Linie den Rostuntersuchungen dienten.

Bei den soeben beschriebenen Krankheitssymptomen handelt es sich um den schwersten Fall der Erkrankungen; wir werden in einem späteren Abschnitt zu zeigen haben, daß äußere Faktoren, vor allem Temperatur,

Licht, Mineralsalz- und Kohlensäureernährung den Krankheitsverlauf und das Krankheitsbild bei den nekrotischen Linien von Kolbenweizen zu beeinflussen vermögen. Stets jedoch ähnelt das zu beobachtende Krankheitsbild dem Infektionstypus O (verschiedene Grade der Nekrose ohne Pustelbildung), wie er nach Infektion mit bestimmten Gelbrostrassen auf Heines Kolbenweizen und anderen Weizensorten hervortritt. (Vergl. Gaßner und Straib, 22).

Um einige Anhaltspunkte über die Häufigkeit des Auftretens von Pflanzen mit konstitutionell bedingter Flecken- und Nekrosebildung bei Kolbenweizen zu gewinnen, kamen im Jahre 1930 und später einige Aussaaten in größerer Pflanzenzahl zur Beobachtung; einige Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Danach beobachten wir im Originalsaatgut aus der Ernte 1929 rund 1% nekrotische Pflanzen, während sich im 3. Nachbau der Ernte 1932 nur der 3. Teil an nekrotischen Pflanzen findet.

Tabelle 1. Häufigkeit erblich nekrotischer Pflanzen in Kolbenweizen.

Versuchstemperatur: 12-15°C. Versuchserde: Lehmiger Sandboden

Versuchs- Nummer	Abstammung des Saatgutes	Versuchsbeginn	Gesamt- zahl der beobachte- ten Pflanzen	Gesunde Pflanzen	Nekro- tische Pflanzen	Prozent- satz nekro- tischer Pflanzen
732	Original Ernte 1929	15, Sept. 1930	5670	5606	64	1.128
733	Original Ernte 1929	21. Okt. 1930	9360	9294	66	0,705
748	Original Ernte 1929	24. Okt 1930	1515	1500	15	1,0
1164	3. Nachbau Ernte 1933	17. Nov. 1934	1084	1080	4	0,37
		Insgesamt	17629	17480	149	0,86

Neben Heines Kolbenweizen (Triticum vulgare lutescens) wurden gelegentlich bei Rostprüfungen noch etwa 1200 Sorten von 21-chromosomigen Weizen bezüglich Auftretens von Blattflecken und Nekrosen beobachtet. Nekrosen, die mit dem oben beschriebenen "Kolbentypus" vollständig übereinstimmten, wurden nicht mehr festgestellt, wohl aber bei einzelnen Sorten verschiedene ähnliche Typen von Chlorophylldefekten, die ebenso wie diejenigen bei Heines Kolben bei Temperaturen unter 15°C weit deutlicher hervortreten als bei höheren Temperaturen. In den meisten Fällen werden nur zahlreiche kleine, oft nur stecknadelkopfgroße staubgraue bis braune Tüpfel und Flecken sichtbar, die verschmelzen und größere Teile des Blattes zum Absterben bringen können. Zu diesem Typus gehören z. B. die Sorten (1313) Triticum compactum creticum, (1339) Triticum vulgare Hostianum, (1365) Triticum vulgare ferrugineum (Podlanka).

Dem Kolbentyp am nächsten kommt die Sorte (556) Stolls 150 (Triticum vulgare ferrugineum), bei der der größte Teil der Blattspreite, besonders die Spitze, zunächst eigenartige gelbe Verfärbungen zeigt, die langsam eine staubgraue Tönung annehmen. Ist dieses Stadium erreicht, so sinken die Gewebe rasch zusammen, und das Blatt stirbt in kurzer Zeit größtenteils ab (Abb. 1, K.). Auch diese Art der Blattnekrosen erwies sich als erblich fixiert. Doch handelte es sich bei den soeben erwähnten Weizen nicht wie bei Kolben um einzelne nekrotische Pflanzen, welche die "Sorte" abspaltet, sondern um eine Nekrose, die bei sämtlichen Individuen der Sorten auftreten. Wahrscheinlich hängt diese restlose Erkrankung damit zusammen. daß sämtliche Varietäten unseres Sortiments Nachkommenschaften von Einzelpflanzen darstellen, sodaß die Möglichkeit besteht, daß bei der Auslese hier zufällig krank veranlagte Linien selektioniert wurden. Auf diese Weise findet auch andererseits das geringe Vorkommen von erblicher Nekrose in unserem Sortiment seine Erklärung.

#### b) Blattnekrosen bei 14-chromosomigen Weizen.

In unseren vergleichenden Studien über das Verhalten der Triticum-Reihen gegen biologische Rassen des Gelbrostes (Straib, 48) wurden bereits Störungen in der Beurteilung der Rostinfektion durch eigentümliche Blattflecken bei einigen Varietäten, die nicht zur vulyare-Gruppe gehörten, beobachtet. Aus 150 an jener Stelle näher bezeichneten 7- und 14-chromosomigen Weizensorten und weiteren 40 neuen Sorten wurden dann später sieben Sorten mit konstitutionell bedingten Blattnekrosen ermittelt. Es sind dies folgende Sorten:

(1862) Triticum polonicum levissimum, (2044) Triticum polonicum levissimum. (2152) Triticum polonicum oblongum, (2158) Triticum polonicum nigrobarbatum, (2035) Triticum durum melanopus, (2036) Triticum durum melanopus, (2096) Triticum durum hordeiforme.

Auch hierbei handelt es sich nicht wie bei Kolbenweizen um einzelne nekrotische Pflanzen in einer sonst gesunden Varietät; vielmehr lassen bei diesen Sorten ebenfalls sämtliche Pflanzen nach bestimmter Zeit im Gewächshaus Fleckenbildung und Nekrosen von Blatteilen erkennen. Ob wir die Sorten bereits nekrotisch in unser Weizensortiment aufgenommen haben, oder ob es sich hier um eine zufällige Auslese nekrotischer Linien aus einer ähnlichen, wie Heines Kolben zusammengesetzten Population handelt, läßt sich heute nicht mehr nachprüfen.

Die Krankheitssymptome bei den verschiedenen durum- und polonicum-Weizen sind einander ähnlich und unterscheiden sich in verschiedener Hinsicht von denjenigen der nekrotischen Linien von Kolbenweizen. Im zeitlichen Auftreten bestehen kaum Unterschiede. Charakteristisch ist für die Weizen der durum- und polonicum-Gruppe, daß das erste Auftreten von

Blattverfärbungen und Nekrosen meist vom Rande der Blattspreite her einsetzt (Abb. 3, C—F). Wir finden an einzelnen Stellen, besonders nach der Spitze des Blattes zu, zunächst am Rande eine leichte Aufhellung der Gewebe; allmählich entsteht eine graublaue bis graubraune Tönung. Diese graublauen Flecken werden von gelben Rändern umsäumt. Etwa 14 Tage nach dem ersten Sichtbarwerden der Krankheitserscheinungen

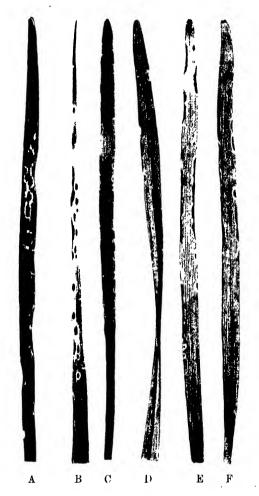


Abb. 3.

Verschiedene Typen erblicher Nekrosen auf durum- und polonicum-Weizen.
(Natürliche Größe.)

- A Nekrosen auf Triticum durum melanopus (2035), erstes Blatt.
- B Nekrosen auf Triticum durum melanopus (2035), zweites Blatt.
- C Randnekrosen auf Triticum durum hordeiforme (2096), vorgeschrittenes Stadium.
- D Randnekrosen auf Triticum polonicum levissimum (2044), Anfangsstadium.
- E Randnekrosen auf Triticum polonicum levissimum (2044), vorgeschrittenes Stadium.
  - Randnekrosen auf Triticum polonicum oblongum (2152), Anfangsstadium.

ist das Chlorophyll verschwunden, und das Blattgewebe sinkt ein; der Blattrand bekommt dadurch ein eigenartig nekrotisch zerfressenes Aussehen. Die Flecken dehnen sich aus, ebenso die gelben Verfärbungen, und in schweren Fällen vereinigen sich die vom Rande des Blattes ausgehenden Nekrosen an dessen Mittelrippe, so daß die Spreite an diesen Stellen leicht durchknickt. Die Krankheitssymptome zeigen sich auf den folgenden Blättern in ähnlicher Weise, mit der Ausnahme, daß die Erkrankung hier verhältnismäßig rascher fortschreitet. Bei sämtlichen Blättern wird hauptsächlich die obere Hälfte der Spreite von der Nekrose ergriffen. Eine Sonderstellung nimmt Triticum durum melanopus (2035) ein. Bei dieser Varietät nehmen die Flecken ihren Ausgang nicht nur vom Blattrand, sondern wir können sie an jeder Stelle der Blattspreite beobachten. Sie sind im allgemeinen auch ausgedehnter als bei den übrigen Sorten (Abb. 3, A—B).

Die Erkrankungen der durum- und polonicum-Varietäten heben sich von denjenigen der Kolbenlinien durch den blaugrauen Nekrosekern ab. Wir können bei durum und polonicum gewissermaßen zwischen Primärnekrosen (blaugrauer Nekrosekern) und Sekundärnekrosen (gelber Rand) unterscheiden (Abb. 3, A—F). Nur im Ausnahmefall beobachten wir auch bei den Kolbenlinien einen blaugrauen Nekrosekern, nämlich im Winter bei schlechter Belichtung. Zu dieser Zeit machen sich die Nekrosen auch oft nur am Rande der Blattspitze bemerkbar (Abb. 1, J, Seite 544).

Ein weiterer Unterschied zwischen den Blattnekrosen vom Kolben-Typus und denjenigen vom durum- und polonicum-Typus besteht darin, daß bei Kolbenweizen unter bestimmten Außenbedingungen die ganze Blattspreite allmählich nekrotisch wird, während bei den anderen Weizen nur Fleckennekrose auftritt, die nach einiger Zeit zum Stillstand kommt. Ein Hauptunterschied liegt aber darin, daß die Nekrosebildung bei Kolbenweizen stark von den Temperaturverhältnissen abhängig ist, während eine solche Abhängigkeit, wie noch zu zeigen sein wird, bei Triticum durum und Triticum polonicum weniger in Erscheinung tritt.

# III. Anatomische und chemische Veränderungen des Weizenblattes durch erbliche Nekrosen (Kolbenlinien).

### a) Anatomisches.

Anatomisch bietet die fortschreitende Nekrotisierung des Blattes kaum Besonderheiten gegenüber den nur durch äußere Ursachen hervorgerufenen Absterbeerscheinungen. Die Verfärbungen und Umwandlungen des Chlorophylls zeigen sich bei den Kolbenlinien, die in dieser Hinsicht bis jetzt untersucht wurden, im allgemeinen zuerst in der Nähe der an den Sklerenchymsträngen liegenden Zellen. Zu diesem Zeitpunkt erscheint die Zellmembran noch intakt. Der fortschreitenden Chlorophyllzersetzung folgt ein Zusammensinken des Mesophylls, verbunden mit langsamem Ab-

sterben größerer und kleinerer Gewebekomplexe. Dem Zelltode gehen immer Degenerationserscheinungen des Chlorophylls voraus.

Die Chloroplasten kranker Linien unterscheiden sich in Zahl, Form und Farbe kaum von denjenigen normaler Linien, solange noch keine Aufhellung der Blattspreite eingetreten ist. Allmählich nehmen dann die Chloroplasten in einzelnen Zellverbänden eine gelbgrüne Tönung an, die etwa drei Wochen nach dem Auflaufen des Weizens in Gelb übergeht. Teilweise schrumpfen die Chloroplasten zusammen oder werden aufgelöst. und zwar zuerst wieder in den den Sklerenchymsträngen am nächsten liegenden Zellen. Im Mesophyll beobachten wir zunächst Partien mit normalem Aussehen neben solchen mit gelb gefärbten Chlorophyllkörnern. Wir haben es also bei den erkrankenden Linien nicht etwa mit einem Fehlen der Anlage zur Chlorophyllbildung zu tun, sondern mit einer Neigung zur Degeneration der Chloroplasten. Die Nekrotisierung der Gewebe ist vermutlich die Folgeerscheinung. Während beim Sordago der Mirabilis Jalapa (Correns, 6) nur die Palisadenzellen erkranken, besitzen bei der Nekrose des Weizens sämtliche Zellen im Gewebe, soweit sie Chlorophyll führen, die Disposition zur Erkrankung.

#### b) Chemische Veränderungen (Kolbenlinien).

Bezüglich der durch erbliche Nekrose hervorgerufenen chemischen Veränderungen des Weizenblattes sind eigene Untersuchungen nicht durchgeführt. Hier können wir jedoch auf Analysen von Hilpert und Heidrich (25) verweisen, durch die die Beziehungen zwischen Stickstoff- und Chlorophyllgehalt bei natürlicher und krankhafter Vergilbung der Blätter geprüft sind. Dankenswerter Weise haben die Autoren dazu auch Pflanzenmaterial unserer nekrotischen Kolbenlinien verwendet. Hilpert und Heidrich vergleichen den Stickstoffgehalt von natürlich vergilbten Weizenblättern, von Blättern mit Nekrosen, die durch Gelbrostinfektion verursacht waren, und von Blättern der Pflanzen mit erblicher Nekrose und kommen dabei zu folgendem Ergebnis: "Blätter von Pflanzen mit erblicher Nekrose zeigten in den vergilbten Teilen den Stickstoff-Gehalt von 1,09 % gegenüber 2,72 % in den grünen Blättern. Der Endwert entsprach also dem der normalen Vergilbung, während der Stickstoff-Gehalt der grünen Blätter relativ niedrig war. Dagegen besaß ein rost-befallener Weizen an den entfärbten Stellen noch 1,94% Stickstoff gegenüber 3,98% in den grünen Blättern. Im Normalzustand entsprechen 1,94 % Stickstoff noch erhebliche Mengen an Chlorophyll. Dieser Fall steht also in der Mitte zwischen der Vergiftung und der natürlichen Vergilbung." (Hilpert und Heidrich, 25, S. 1081).

Wenn sich danach normal aussehende Blatteile erblich nekrotischer Linien wesentlich von denjenigen normaler Linien unterscheiden, so dürfen wir aus dieser Tatsache schließen, daß die Degeneration des Chlorophylls bereits zu einem Zeitpunkt einsetzt, zu dem wir weder der Pflanze, noch den Chloroplasten ansehen, ob sie den Nekrosefaktor aufweisen. Somit hat sich bereits vorher der Eiweißgehalt der Pflanze verändert, ebenso wie gesetzmäßig Transpiration und Assimilationsgröße dadurch beeinflußt werden (Gaßner und Goeze, 17). Wir müssen also damit rechnen, daß der Degeneration und physiologischen Störung der (hlorophyllkörner ein Zerfall des Zytoplasmas vorausgeht.

#### IV. Beziehungen zwischen äußeren Faktoren und Nekrose.

#### a) Erreger?

Die Tatsache, daß nur bestimmte Weizenlinien und -sorten Blattnekrosen aufweisen, läßt noch die von Correns (6) bei der Sordago bereits angedeutete Möglichkeit offen, daß etwa eine besondere Disposition zur Erwerbung von parasitären Erkrankungen vorliegt. Auch Virusinfektion könnte eine Rolle spielen.

Die Beobachtungen nekrotischer Pflanzen über einen längeren Zeitraum brachte ebenso wie die anatomische Untersuchung der Blätter keine Anhaltspunkte für das Vorhandensein eines Erregers, und es konnte niemals Pilzmycel nachgewiesen werden. Auch das Vorhandensein eines Virns ist unwahrscheinlich. Seit mehreren Jahren werden über längere Zeiträume nekrotische und normale Kolbenlinien im Gewächshaus sowohl wie im Freiland nebeneinander kultiviert, ohne daß jemals eine Übertragung sichtbar geworden wäre. Virnskrankheiten in Pflanzen weisen demgegenüber meist ausgedehnte Infektionsmöglichkeiten auf (vgl. Köhler, 30). Infektionsversuche, bei denen Reibsaft nekrotischer Linien in der von Köhler angegebenen Weise auf Blättern normaler Linien verrieben wurde, verliefen negativ, ebenso auch Injektion des die Blattscheide und -spreite gesunder Pflanzen. größeren Versuchsreihen traten unerwünscht auch zahlreiche Aphiden auf, die durch gleichzeitige Kultur von Raphanus angelockt wurden, ohne daß dadurch eine Krankheitsübertragung bewirkt worden wäre, obwohl Saugwirkung der Läuse an den Weizenblättern deutlich zu erkennen war. Mögen diese negativen Befunde auch nicht unmittelbar beweisend sein, so machen sie es doch wahrscheinlich, daß ein Virus an der Entstehung der Blattnekrosen nicht beteiligt ist. In diesem Sinne spricht vor allem auch die Tatsache, daß Nekrosen in den verschiedensten Böden ebenso wie im sterilen Quarzsand zur Entwicklung gelangen. Demgegenüber ist das Auftreten des Weizenmosaiks (Virosen) an das Vorhandensein des "infektiösen Prinzips" im Boden gebunden (Mc Kinney, 28 a, 28 b; Webb, 51, 52).

#### b) Temperatur.

Die für die Linien von Kolbenweizen in Abschnitt II beschriebenen Krankheitssymptome beobachteten wir im Gewächshaus in dieser Form

nur unter bestimmten Kulturbedingungen. Hierbei spielt die Temperatur die wichtigste Rolle. Nur wenn die Temperatur längere Zeit hindurch, zum mindesten aber acht bis zehn Tage vor dem Erscheinen der ersten Verfärbungen unter 15°C liegt, können sich Blattnekrosen in nennenswerter Weise bei Kolbenlinien entwickeln. Werden Kolbenlinien mit Veranlagung zur Nekrose dauernd in Temperaturen über 15°C kultiviert, so wird die Krankheit nicht sichtbar.

Weitere Versuche, in denen zur Ermittlung der sensiblen Periode die Zeit des Aufenthaltes in warmen und kalten Gewächshäusern (mit genau eingestellter Temperatur!) variiert wurde, ergaben, daß eine Vorkultur der Kolbenlinien bis zur Entfaltung des ersten Blattes bei Temperaturen von 15 bis 20°C und nachfolgender Aufenthalt der Pflanzen in Temperaturen unterhalb 15°C die zeitliche Entwicklung der Nekrosen fördert, daß dagegen graduelle Unterschiede gegenüber dauernd unterhalb 15°C kultivierten Pflanzen kaum bestehen. Werden nekrotische Linien bis zum Erscheinen des zweiten Blattes bei Temperaturen unterhalb 15 °C herangezogen und nachher in Temperaturen von 15 bis 20 °C weiterkultiviert, so wird das Auftreten von Flecken zwar nicht verhindert, ihre Ausdehnung aber erheblich eingeschränkt. Wir erhalten dann nur einzelne kleinere gelbbraune Zonen in der oberen Hälfte der Blattspreite. Ein ähnliches Krankheitsbild entsteht bei starken Schwankungen der Tagestemperatur. Je nach Vorherrschen von Temperaturen unter oder über 15 °C gestaltet sich am Ende die graduelle Entwicklung der Blattflecken und der Nekrosen. Eine untere Temperaturgrenze für das Zustandekommen der Nekrosen scheint es, sofern die Temperatur nicht das Wachstumsminimum der Weizenpflanzen unterschreitet, nicht zu geben.

Soweit sich bisher sagen läßt, ist das Auftreten der Flecken bei den durum- und polonicum-Weizen weniger von der Temperatur abhängig. Wir beobachten sie auch noch bei Temperaturen, die längere Zeit oder dauernd über 15°C liegen. Es hat sogar den Anschein, als würde bei diesen Varietäten das Optimum für die Entwicklung der Nekrosen nicht unter, sondern über 15°C, und zwar etwa bei 20°C liegen.

#### c) Licht.

Vergleichende Beobachtungen in verschiedenen Jahreszeiten wie auch Versuche mit variiertem Lichtgenuß der Pflanzen zur gleichen Zeit ergaben, daß die Nekrosebildung der Kolbenlinien auch bei optimalen Temperaturen durch mangelkaften Lichtgenuß stark gehemmt und unterdrückt wird. Besonders die Monate Dezember und Januar sind für die Entwicklung der Krankheit meist ungünstig, auch wenn die Temperatur unter 15°C liegt. Während dieser Zeit beobachten wir an den Blattspreiten nur kleine gelbe Tüpfel nach der Spitze des Blattes zu. Eine

Ausbreitung der Flecken und stärkere Nekrotisierung der Gewebe erfolgt selten. Charakteristisch für die Krankheitsbilder ist auch die Stellung der Blätter zum Lichte. Steht die Blattspreite mit ihrer Spitze dauernd schräg nach oben, so tritt die Fleckenbildung zuerst an der Spitze auf, wird das Blatt in eine hängende Stellung gebracht, so beobachten wir die Flecken zuerst am Scheitel der Blattkurve; von hier aus erfolgt dann die Ausbreitung nach der Spitze und nach der Basis hin.

Für die nekrotischen durum- und polonicum-Varietäten gelten dieselben Gesetzmäßigkeiten bezüglich des Lichteinflusses.

#### d) Mineralsalzernährung (Kolbenlinien).

Gewisse Unterschiede in der Entwicklung und Ausdehnung der Nekrosen, je nachdem die nekrotischen Kolbenlinien in gewöhnlicher Erde vom Versuchsfeld Gliesmarode oder in Komposterde oder Bausand herangezogen wurden, sowie lokale Verschiedenheiten im Auftreten der Nekrosen im Freiland deuteten auf eine Abhängigkeit der Erkrankung vom Nährstoffgehalt des Bodens hin. Die Klärung dieser Fragen war im Interesse einer gesicherten Faktorenanalyse unerläßlich.

Entsprechende Versuche kamen sowohl im Gewächshaus wie im Felde zur Durchführung. Im Freiland beschränkten wir uns in der Hauptsache auf Beobachtungen erblich nekrotischer Kolbenlinien, die auf den Dauerdüngungsparzellen des Gliesmaroder Versuchsfeldes ausgesät waren. Exakter und zuverlässiger erschienen uns Gewächshausversuche mit variierten Nährsalzgaben.

Die Gewächshausversuche mit jungen Pflanzen sind hauptsächlich als Sandkulturen (Hohenbockaer Quarzsand) entsprechend der von Gaßner und Hassebrauk (18) gewählten Versuchsanstellung durchgeführt. Bezüglich der Versuchsmethodik können wir deshalb auf die Arbeit dieser Autoren verweisen.

In einer größeren Versuchsreihe kamen zunächst die von Gaßner und Hassebrauk (l.c. Tabelle 27, Seite 578) zusammengestellten Nährlösungen zur Verwendung. Statt KCl haben wir in unseren Versuchen K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gewählt, während der Stickstoff als Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> gegeben wurde. Die Pufferung durch Permutit unterblieb. Über die verwendeten Nährsalzgaben unterrichtet Tabelle 2, die gleichzeitig die Versuchsergebnisse enthält. Das Ergebnis der Prüfung weiterer Nährsalzkombinationen ist in Tabelle 3 zusammengestellt. Es bedeutet:

- 0 = Keine Flecken- oder Nekrosebildung.
- + = Einzelne kleinere nekrotische Flecken, hauptsächlich an der Blattspitze.
- ++ = Flecken und Nekrosen ausgedehnter, etwa 25 % der Blattspreite einnehmend.
- +++ = Flecken und Nekrosen teilweise verschmelzend; bis 50 % der Blattspreite einnehmend.
- ++++ = Der größte Teil der Blattspreite ist nekrotisch und stirbt ab.

- +++++ = Blatt vollständig abgestorben.
  - () bedeutet leichte Abschwächung des betreffenden Grades der Flecken- und Nekrosebildung.

Versuch 1035

Versuch 1037

Bei der Abstufung des Nekrosegrades ist zu unterscheiden zwischen zeitlich bedingten Unterschieden im Auftreten der Verfärbungen und Nekrosen und den bei der Schlußablesung bonitierten Nekrosegraden.

Tabelle 2.

## Ausdehnung der Blattnekrosen (1. Blatt) auf der Kolbenlinie XI-2 in Nährlösungen mit gleichzeitig variiertem K-, P- und N-Gehalt.

(Betr. der Nährlösungen u. d. gewählten Bezeichnungen siehe Gaßner u. Hassebrauk, 18).

Tag	Versuchsbeginn									ni 1938 li 1933 2°C 4°C 1°C
	V	ariierte N	ährsalze	(Gramm	pro Lite	r)	Konst Nähr			ungsgrad ekrosen
Nr.		K <sub>2</sub> O C <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	Ca(N		MgO MgSO <sub>4</sub>	Na+Fe NaCl + FeCl <sub>3</sub>	Versuch 1037	Versuch 1035
1 2 3 4	n	0,034 0,034 0,034 0,034	—Р —	$ \begin{cases} 0 \\ 0 \\ 0 \end{cases} $	-N nN 5 nNN	0, 0,4 2,0 0,	0,25	Spuren	0 0 0 0	0 0 0
5 6 7	<u>n</u> K	0,034 0,034 0,034	nP	$ \begin{array}{c c}  & 0.2 \\  & 0.2 \\ \hline  & 1.0 \end{array} $	nN 5 nN -N	0,4 2,0 0,	" " "	" " "	0 	0 0
8		0,034	5 nP	{ 1,0 1,0	nN 5 nN	0,4 2,0	"	"	0	0
10 11 12		0,68 0,68 0,68	_P	$\left\{ \begin{smallmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \end{smallmatrix} \right.$	- N nN 5 nN	0, 0,4 2,0	" "	n n	(+)	- ++ +
18 14 15	nK	0,68 0,68 0,68	nP	$ \begin{cases} 0,2 \\ 0,2 \\ 0,2 \end{cases} $	-N nN 5 nN	0, 0,4 2,0	" "	n n	+++ ( ) - , <u>0</u>	+++++++++++++++++++++++++++++++++++++++
16 17 18		0,68 0,68 0,68	5 nP	$ \left\{ \begin{array}{l} 1,0 \\ 1,0 \\ 1,0 \end{array} \right. $	nN 5 nN	0, 0,4 2,0	r n n	n n n	(+)	+++
19 20 21		3,4 3,4 3,4	_P	$\left\{ \begin{array}{l} 0 \\ 0 \\ 0 \end{array} \right.$	-N nN 5 nN	0, 0,4 2,0	" "	n n	+++	+++
22 23 24 25	5 nK	3,4 3,4 3,4 3,4	nP	$ \begin{cases} 0,2 \\ 0,2 \\ 0,2 \end{cases} $ 1,0	-N nN 5 nN	0, 0,4 2,0 0,	" "	n n	++(+) +(+) 0	+++
26 27		3,4 3,4 3,4	5 nP	$\left\{\begin{array}{c} 1,0 \\ 1,0 \\ 1,0 \end{array}\right.$	nN 5 nN	0,4 2,0	" "	n n	+(+)	( <del>+)</del>

<sup>.1)</sup> Mittel aus drei Ablesungen: 7 Uhr, 12 Uhr, 17 Uhr.

Tabelle 3.

Ausdehnung der Blattnekrosen (1. Blatt) auf Kolbenlinie XI—2 in Nährlösungen mit verschiedenem K-, P-, N- und Mg-Gehalt.

				Versuch 936	Versuch 999	Versuch 1036
Versuchsbeginn				8. Okt. 1932 21. Nov. 1932	9. Mai 1933 12.Juni 1933	7. Juni 1988 5. Juli 1988
Mittleres tägliches Maximum Mittleres tägliches Minimum			•	17,6" 12,5° 15,4°	$17,5^{\circ}$ $12,3^{\circ}$	17,2° 13,4°
Tagesmittel		:	:	15,40	15,0 °	15,10

1		]	Nährsalz	ze		Ausdehnung der Nekrosen		
Differenzierung	${ m Ca(NO_8)_2}$	K,SO,	Cas(PO4)	MgSO,	NaCl + FeCls	Versuch 936	Versuch 999	Versuch 1036
Volle Lösung	0,4	0,68	0,25	0,25	Spur	++++	++++	+++(+)
Ohne N	0	0,68	0,25	0,25	"	++++	+++-1	+-+-+(-+)
$\frac{n}{10}$ N	0,04	0,68	0,25	0,25	,,	+++++	++	+-+-+(+)
Ohne K <sub>2</sub> () .	0,4	0	0,25	0,25	n	0	0	0
$\frac{n}{10}$ $K_{8}O$	0,4	0,07	0,25	0,25	n	0	0	0
Ohne P <sub>3</sub> O <sub>5</sub> .	0,4	0,68	0	0,25	"	++(+)	++(+)	+
n 10 P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	0,4	0,68	0,025	0,25	n	+++(+)	++(+·)	-+-(+-)
Ohne MgO .	0,4	0,68	0,25	0	,,	+++(+)	+++(+)	+++(+)

Wir können die Befunde dieser Prüfungsreihen mit nekrotischen Kolbenlinien kurz folgendermaßen zusammenfassen:

- 1. Die Nekrosen werden nur sichtbar, wenn die Nährlösungen einen oestimmten Kalianteil aufweisen. Kalimangel unterdrückt das Auftreten erblicher Blattnekrosen ohne Rücksicht auf die optimale Anwesenheit der übrigen Nährstoffe. Davon unabhängig treten bei Kalimangel charakteristische Verfärbungen bzw. Bräunungen der Blattspitze auf (vergl. auch Merkenschlager, 33; Gaßner und Hassebrauk, 18; Klinkowski, 29, u. a.).
- 2. Stickstoffmangel fördert die Entwicklung der Nekrosen; bei starkem Stickstoffüberschuß treten die Nekrosen, auch wenn die übrigen Nährstoffe optimal vorhanden sind, zurück.
- 3. Phosphorsäure mangel vermindert die Ausdehnung der Nekrosen, doch zeigt Phosphorsäure einen wesentlich geringeren Einfluß als Stickstoff und Kali.

Solange die Nährsalze in ausgeglichenem Verhältnis zueinander in der Nährlösung vorhanden sind, ändert sich auch bei fortschreitender Entwicklung der Pflanzen in dem Auftreten der Blattnekrosen nichts, und wir beobachten die Unterschiede in derselben Weise auch auf dem zweiten und dritten Blatt.

Eine schärfere Abgrenzung der Wirkung der verschiedenen Nährsalze ist infolge der Labilität des Nekrosetyps naturgemäß schwierig und unsicher; es sollen daher auch keine weitergehenden Schlußfolgerungen bezüglich der gegenseitigen Beeinflussung der einzelnen Nährstoffe gezogen werden. Daß die Kalimangelwirkung nach den vorliegenden Ergebnissen als Wirkung einseitiger Stickstoffaufnahme der Pflanzen gedeutet werden kann, ist kaum zweifelhaft. Wir stehen in diesen Folgerungen auch in Einklang mit den neueren Ergebnissen von Gaßner und Goeze (16) über die Bedeutung des Kali-Stickstoffverhältnisses für den Ablauf physiologischer Prozesse der Getreidepflanzen.

Die stärkste Nekrosebildung erhalten wir in Nährlösungen mit schwachem Stickstoffmangel und normalem Anteil der übrigen Nährstoffe. Auch in normaler Knopscher oder in Poppelsdorfer Nährlösung werden die Nekrosen, vorausgesetzt, daß entsprechende Temperaturen eingehalten werden, stets deutlich sichtbar.

Die im Gewächshaus mit jungen Pflanzen im Gefäßversuch gemachten Feststellungen über die Abhängigkeit des Nekroseauftretens von der Mineralsalzernährung vermögen uns wertvolle Anhaltspunkte für die Beurteilung der Nekrosen im Freiland zu geben. Danach müßten die Nekrosen am besten in Böden zu beobachten sein, die keinen zu starken Stickstoffüberschuß aufweisen. Kali und Phosphorsäure sind wohl stets in gewisser Menge im Boden vorhanden, sodaß die Entwicklung der Nekrosen möglich wird.

Die Prüfung von Bodenproben, die dem Dauerdüngungsversuch des Gliesmaroder Versuchsfeldes entnommen wurden, bestätigt die obigen Schlüsse aus der Sandkultur. Über die Anlage dieses Versuches, der seit 1923 läuft, ist bereits von Gaßner und Hassebrauk (19) berichtet. Die Ergebnisse einer Prüfungsreihe verschiedener Bodenproben mit der Kolbenlinie XI—2 (nekrotisch) und der normalen Linie XI—1 als Kontrolle sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Die Nekrosen erlangen ihre stärkste Ausdehnung — genau wie im Gefäßversuche — bei Stickstoffmangel, während in Erde von der Kalimangelparzelle kaum Nekrosen zur Entwicklung gelangen. Dagegen finden wir bei gewöhnlicher Ackererde des Versuchsfeldes ebenso wie in der Volldüngungsparzelle eine ziemlich regelmäßige Ausdehnung der Nekrosen; sie bleiben hier hinter der Stickstoffmangelparzelle nur wenig zurück. Auffallenderweise treten auch in dem Boden der ungedüngten Parzelle ziemlich regelmäßig Nekrosen auf. Wir können dies auf relativen Stickstoffmangel der ungedüngten Parzelle zurückführen, während umgekehrt

das geringe Auftreten der Nekrosen in der Kalimangelparzelle einem relativen Stickstoffüberschuß zugeschrieben werden muß (vergleiche auch Gaßner und Hassebrauk, 18). Der Aziditätsgrad des Bodens scheint auf die Ausdehnung der Nekrose keinen wesentlichen Einfluß auszuüben (vergleiche Tabelle 4).

Tabelle 4.

Ausdehnung der Blattnekrosen auf Kolbenlinie XI-2 in dauernd einseitig gedüngter Versuchserde (Versuch 937).

Beobachtung von Keimpflanzen im Gewächshaus.

Versuchsbeginn: 10. November 1932. Tag der Ablesung: 27. Dezember 1932.

Versuchstemperatur: Mittleres tägliches Maximum 17,6°C.

Mittleres tägliches Minimum 12,5°C.

Tagesmittel 15,4°C.

Düngung	pH-Wert²)	Ausdehnung der Nekrosen auf dem 1. Blatt
+ K + P + N + Ca	7,6 7,2 5,9 4,5 6,9 7,0 6,1 vacat	+++ vacat + (+) ++

Weitergehende Schlüsse über die Wirkung der einzelnen Nährstoffe sollen aus diesem Versuch im Hinblick auf die Ausführungen von Mitscherlich (34), in denen auf die Unbrauchbarkeit von Dauerdüngungsversuchen zur pflanzenphysiologischen Nährstoffbestimmung hingewiesen wird, nicht gezogen werden.

Eine weitere Versuchsreihe (Tabelle 5), in der der gewöhnlichen Versuchserde steigende Ammoniumnitratgaben verabreicht wurden, bestätigt ebenfalls die hemmende Wirkung von Stickstoffüberschuß auf die Nekroseentwicklung.

Mit Rücksicht auf die Ähnlichkeit der Krankheitssymptome zwischen erblicher Nekrose und Dörrfleckenkrankheit wurde noch die Frage experimentell geprüft, ob Mangansalze das Auftreten der Nekrosen bei Kolbenlinien zu beeinflussen vermögen. Zu diesem Zweck wurden

<sup>&#</sup>x27;) Nach der Untersuchung der Landwirtschaftlichen Versuchsstation Braunschweig brachte die Neubaueranalyse folgendes Ergebnis: 100 Roggenpflänzchen nahmen aus 100 g absolut trockenen Bodens auf: 6,5 mg Phosphorsäure und 18,9 mg Kali. Kalkbedürftigkeit lag nicht vor.

<sup>2)</sup> Die Bestimmungen sind mit der Chinhydronelektrode von Herrn Dr. Goeze vorgenommen; ich danke Herrn Dr. Goeze für die Überlassung der Daten.

#### Tabelle 5.

### Einfins des Stickstoffgehalts der Versuchserde auf die Entwicklung der Blattnekrosen bei Kolbenlinie XI—2 (Versuch 932).

Versuchsbeginn: 27. Oktober 1932. Tag der Ablesung: 18. Dezember 1932.

Versuchstemperatur: Mittleres tägliches Maximum 17,7°C.

Mittleres tägliches Minimum 12,9°C.

Tagesdurchschnitt 15,4°C.

Stickstoffgaben pro 200 g Erde im 8 cm-Topf mit 10 Pflanzen	Ausdehnung der Nekrosen
1. Ackererde ohne N-Zugabe	++++ ++++ + 0-(+)

unserer Gliesmaroder Versuchserde, in der die Nekrosen stark auftreten, steigende Mengen von Mangansulfat verabreicht. Eine Beeinflussung der Nekrosen konnte nicht beobachtet werden, gleichgültig, ob Mangansulfat bereits beim Auflaufen des Weizens oder später zu verschiedenen Zeitpunkten bis kurz vor Auftreten der Nekrosen auf dem ersten Blatt gegeben wurde. Demgegenüber vermag Mangansulfat, in geeigneter Dosis und zu geeignetem Zeitpunkt verabreicht, nach Hiltner (26) die Dörrfleckenkrankheit vollständig an ihrer Entwicklung zu hindern. In dieser Hinsicht bestehen also keine Beziehungen zwischen beiden Krankheiten.

Gleichzeitig wurde noch der Einfluß des Magnesiums geprüft. Nach Jessen (27) ruft Magnesiummangel die Marmorierung der Getreidearten hervor. Ans Tabelle 3, Seite 555 ist jedoch zu erkennen, daß die Anoder Abwesenheit von Magnesiumsulfat in der Nährlösung keinen Einfluß auf die Entwicklung der Nekrosen ausübte.

Wirkungslos blieb auch Kupfersulfat, das gelöst dem Boden in verschiedener Dosis und zu verschiedenen Zeitpunkten vor dem ersten Auftreten erblicher Nekrosen verabreicht wurde. Borsäure und Borax, die ebenfalls gelöst in den Boden gegeben wurden, schädigten schon in relativ sehr schwacher Konzentration das Pflanzenwachstum, ohne daß im übrigen eine Wirkung gegenüber der Nekroseentwicklung zu erkennen war.

Vergleichende Beobachtungen im Freiland über den Einfluß starker Stickstoffdüngung auf das Hervortreten und die Ausdehnung der erblichen Nekrosen liegen aus dem Sommer 1932 vor. Eine Gabe von 16 kg Salpeterstickstoff pro ½ ha, als Kopfdünger im Mai verabreicht, vermochte das Auftreten der Nekrosen bei Kolbenlinien noch kaum zu beeinflussen. Erst bei dreifacher Gabe war eine Verminderung zu erkennen, doch lagerten die in dieser Stärke gedüngten Parzellen stark, sodaß die Nekrosebeobachtung gestört wurde.

Es hat also den Anschein, daß im Freiland nur eine sehr reichliche Stickstoffversorgung des Bodens in der Lage ist, das Auftreten der Nekrosen zu vermindern. Dies geht auch daraus hervor, daß die Nekrosen im Jahre 1931 auf schwerem Bördeboden im Zuchtgarten der Saatzuchtwirtschaft Heine zu Hadmersleben kaum weniger stark hervortraten als auf unserem Versuchsfeld Gliesmarode mit leichtem sandigen Lehmboden 1).

Weitere Versuche wurden 1933 auf dem Dauerdüngungsversuch des hiesigen Versuchsfeldes mit Kolbenlinien derart angelegt, daß je eine nekrotische Linie (XII—2) neben einer normalen Linie (XII—1) lag. Die normale Linie diente als Kontrolle für etwa auftretende natürliche Ver-



Abb. 4.

Links normale, rechts erblich nekrotische Linie von Kolbenweizen auf der KPN (+ Ca)-Parzelle des Dauerdüngungsversuchs zu Gliesmarode.

Photographiert: 30. Juli 1933.

gilbungen der Blätter. Die Teilstückgröße betrug 2 qm. Auf jedem Düngungsstreifen lagen zwei Parzellen einander gegenüber. Das Auftreten der Nekrosen zu den einzelnen Zeitpunkten im Frühjahr und im Sommer entsprach ungefähr den in Tabelle 4 angegebenen Befunden mit Keimpflanzen im Gewächshaus. Eine summarisch vergleichende Bonitierung ist im Freiland schwieriger durchzuführen, weil wir es mit dem Auftreten von Nekrosen auf den Blattspreiten zu verschiedenen Entwicklungsstadien zu tun haben, und weil vor allen Dingen auf den verschiedenen Düngungsstreifen zum gleichen Zeitpunkt verschiedene

<sup>1)</sup> Herrn Saatzuchtleiter Vettel danke ich verbindlichst für die Durchführung des Versuchs.

Entwicklungsstadien vorliegen. Eine Gegenüberstellung der gleichen Entwicklungsstadien ist aber aus dem Grunde unmöglich, weil wir im Freiland keine konstanten Temperaturen haben.

Am stärksten trat während der ganzen Vegetationsperiode die Nekrose auf den N-Mangel- und der Volldüngungsparzelle (mit Kalk) auf (Abb. 4). Auf diesen Parzellen war die Gesamtentwicklung der Pflanzen der nekrotischen Linie während der ganzen Vegetationszeit geschwächt, und der Halm blieb stets kürzer. Auch auf der Phosphorsäuremangelparzelle traten Blattnekrosen in den verschiedenen Entwicklungsstadien stets deutlich hervor, und die nekrotische Linie blieb in ihrer Entwicklung gegenüber der normalen zurück (Abb. 5). Einen geringeren Wachstums-

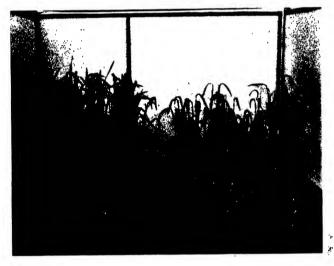


Abb. 5.

Links normale, rechts erblich nekrotische Linie von Kolbenweizen auf der KN-Parzelle des Dauerdüngungsversuchs zu Gliesmarode.

Photographiert: 30. Juli 1933.

unterschied zwischen normaler und nekrotischer Linie zeigen die Volldüngungsparzellen ohne Kalk, obwohl auch hier Nekrosen jederzeit sichtbar waren; ihre Ausdehnung erreichte allerdings nicht diejenige der Volldüngungsparzelle mit Kalk (Abb. 6). Verhältnismäßig schwach traten die Nekrosen in der Kalimangelparzelle hervor. Abb. 7 zeigt deutlich, daß kaum Wachstumsunterschiede zwischen nekrotischer und normaler Linie bestehen; der Halm der nekrotischen Linien scheint sogar fast länger zu sein als derjenige der normalen. Auf der ungedüngten Parzelle (mit Kalk) waren die Pflanzen nur schwach entwickelt. Erbliche Nekrosen wurden zwar sichtbar, doch zeigten hier auch die Blätter der normalen Linie infolge Nährstoffmangels Absterbeerscheinungen. Die Pflanzen der nekrotischen

Linie waren noch kümmerlicher entwickelt als bei der normalen. Auf der vollständig ungedüngten Parzelle kamen nur einzelne Pflanzen zum Schossen, die meisten Pflanzen gingen vorher zugrunde.

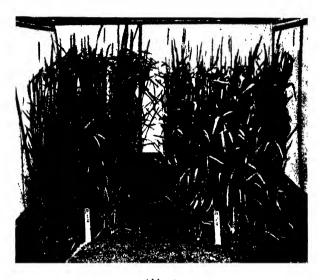


Abb. 6.

Links normale, rechts erblich nekrotische Linie von Kolbenweizen auf der KPN(—Ca)-Parzelle des Dauerdüngungsversuchs zu Gliesmarode.

Photographiert: 30. Juli 1933.



Abb. 7.

Links normale, rechts erblich nekrotische Linie von Kolbenweizen auf der PN-Parzelle des Dauerdüngungsversuchs zu Gliesmarode.

Photographiert: 30. Juli 1933.

Während der Sommer 1933 für das Hervortreten der Nekrosen besonders günstig war, traten im trocken-warmen Sommer 1934 auf den in derselben Weise auf dem Dauerdüngungsversuch angelegten Parzellen keine stärkeren Nekrosen auf, und die Entwicklungsunterschiede machten sich nicht in derselben Weise bemerkbar, wie sie oben wiedergegeben werden konnten. Grundsätzlich bestand Übereinstimmung mit den Beobachtungen des vorhergehenden Jahres.

#### e) Kohlensäure (Kolbenlinien).

Der Einfluß der Kohlensäure auf das Krankheitsbild wurde mit einer nekrotischen (XI—2) und einer normalen (XI—1) Kolbenlinie geprüft. Die Begasung wurde in der früher beschriebenen Weise vorgenommen (Gaßner und Straib, 21). Zur Prüfung kamen "Tägliche Anfangskonzentrationen" (T. A.-Konzentrationen) von  $0.15\,^{\circ}/_{o}$ ,  $0.30\,^{\circ}/_{o}$ ,  $0.75\,^{\circ}/_{o}$ ,  $1.5\,^{\circ}/_{o}$ ,  $3.0\,^{\circ}/_{o}$  und  $4.5\,^{\circ}/_{o}$ . Die Versuche wurden in den Monaten Oktober und November 1934 im Gewächshaus bei einer Temperatur von  $12-14\,^{\circ}$  C durchgeführt. Mit der Begasung wurde begonnen, kurz bevor sich das erste Blatt entfaltete.

Die wiederholt durchgeführten Versuche ergaben ein Optimum für die Nekroseentwicklung von 0,3% T. A.-Konzentration der Kohlensäure. Bei dieser Konzentration treten die Verfärbungen und Nekrosen zeitlich am frühesten auf und erreichen auch am schnellsten den Endzustand, nämlich die Nekrotisierung fast der ganzen Blattspreite. Zwischen 0,3 und 0,75 % T. A.-Konzentration besteht kein großer Unterschied. Höhere CO,-Konzentrationen hemmen die Nekrosebildung, die Nekrosen treten später auf und sind weniger ausgedehnt. Bei 4,5 % CO2-T.A.-Konzentration wird die Nekrosebildung vollkommen unterdrückt, doch nur so lange die Begasung andauert. Wird die Begasung unterbrochen oder die CO2-Konzentration optimal gestaltet, so entwickeln sich die Nekrosen weiter. Eine CO<sub>2</sub>-Konzentration von 0,15 % läßt keine stärkere und frühere Nekrosebildung mehr zu als wir sie bei Kontrolltöpfen, die frei im Gewächshaus stehen, beobachten können. Stehen die Töpfe dauernd unter nicht begasten Glocken, so treten die Nekrosen relativ spät und nur in geringem Umfange auf.

Die Kultur nekrotischer Linien in verschiedenen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen zeigt demnach in erster Linie eine zeitliche Verschiebung im Auftreten von Flecken und Nekrosen. Wird die Begasung unterbrochen, etwa nachdem die Pflanzen in 0,3 % CO<sub>2</sub> größtenteils nekrotische Blätter besitzen, so erreichen auch die in anderen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen kultivierten Pflanzen allmählich fast denselben Nekrosegrad, wenn die sonstigen Bedingungen für die allgemeine Entwicklung der Nekrosen günstig sind.

Eine Erhöhung der Kohlensäurekonzentration fördert nach Tabelle 6 bis zu einem gewissen Grade das Auftreten der erblichen Nekrose des Weizens,

Tabelle 6.

### Einfluß der Kohlensäure auf die Entwicklung erblicher Nekrosen bei der Kolbenlinie XI-2.

Versuchstemperatur: Mittleres tägliches Maximum: 15,7° C.

Mittleres tägliches Minimum: 12,0 ° C.

Tagesmittel: 13,7° C.

Aussaat: 18. Oktober 1934. Auflaufen: 24. Oktober 1934.

Beginn der Begasung: 1. November 1934. Ende der Begasung: 26. November 1934.

Weiterkultur der Pflanzen frei im Gewächshaus bis 10. Dezember 1934.

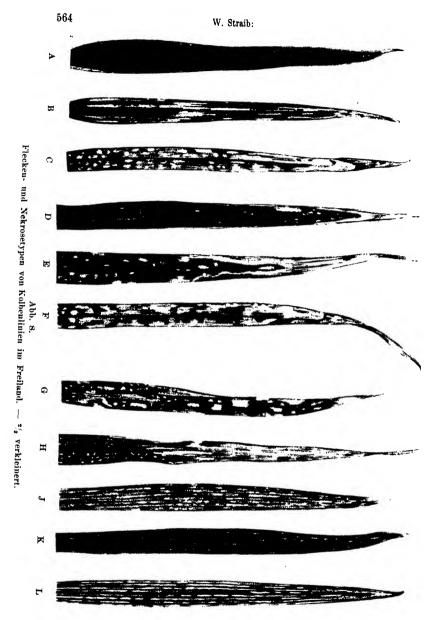
CO <sub>2</sub> -T. A. Konz.	Ausdehnung der Verfärbungen und Nekrosen des ersten Blattes am							
•/,	19. November 1934	26. November 1934	10. Dezember 1934					
0,15 0,30 0,75 1,5 3,0 4,5	(+)—+ ++(+) +(+) +(+) 0 - (+)	+(+) +++ +-+ +(+) (+) 0	+++					
Unbegast Frei im Gewächshaus	(+) +(+)	++	+++					

während demgegenüber die Dörrsteckenkrankheit des Hafers nach Hiltner (26) durch Assimilationssteigerung zurückgedrängt wird. Wir können also auch in dieser Hinsicht keine physiologischen Beziehungen beider Krankheiten erkennen.

#### V. Auftreten der Krankheit im Freiland.

Im Freiland können die Grenzen zwischen den Nekrosen, die erblich bedingt, und solchen, die rein äußerlich veranlaßt sind, keineswegs scharf gezogen werden. Von Pilz- oder Bakterieninfektionen wollen wir hier absehen, unser Augenmerk vielmehr auf solche Blattnekrosen richten, die in einer unzuträglichen Konstellation der Wachstumsfaktoren ihre alleinige Ursache haben. Wir wissen, daß die am tiefsten inserierten Blätter allgemein mit fortschreitender Entwicklung der Weizenpflanze infolge Lichtmangels Vergilbungen oder Absterbeerscheinungen zeigen. Länger anhaltende Trockenperioden bewirken auch auf höher inserierten Blättern Absterbeerscheinungen. Wir kennen auch noch eine ganze Reihe anderer Ursachen, welche für das Absterben von Pflanzen oder Pflanzenteilen verantwortlich gemacht werden müssen (Vgl. Morstatt, 36, S. 93 ff.).

Äußerlich ähneln die Chlorophylldefekte und Nekrosen, wie sie durch Störungen in der Wasserversorgung und im Wassertransport, im Lichtgenuß, in der Sauerstoffzufuhr oder der Mineralsalzernährung verursacht werden, unter Umständen in starkem Maße den Krankheitsbildern der erblichen Nekrosen. Die physiologische und genetische Untersuchung



A Oberstes Halmblatt der normalen Kolbenlinie XI—1. — B Oberstes Halmblatt der normalen Kolbenlinie XI—1 mit Gelbrostrasse 9 infiziert. — C Oberstes Halmblatt der normalen Kolbenlinie XI—1 mit Gelbrostrasse 4 infiziert. — D Anfangsstadium von Flecken- und Nekroseentwicklung auf einem nicht mit Rost infizierten Blatt der nekrotischen Kolbenlinie XI—2. — E, F, G Vorgeschrittene Stadien erblicher Nekrose. — H Endstadium erblicher Nekroseentwicklung. — J Anfangsstadium von Gelbstreifung auf Kolbenpflanzen normaler Linien. — K Vorgeschrittenes Stadium von Gelbstreifung normaler Linien. — L Endstadium von Gelbstreifung normaler Linien.

gestattet uns eine Trennung. Die Grenzen zwischen dem Einfluß der Konstitution und der Umwelt werden sich aber auch hierbei nicht mit unbedingter Sicherheit ziehen lassen, denn die unterschiedliche Reaktion der Sorten auf Störungen der Wasserzufuhr und die dadurch bewirkten Absterbeerscheinungen der Blattspreiten sind beispielsweise ebenfalls genetisch fundiert (Vgl. auch Rademacher. 42).

Die erblichen Blattnekrosen der Kolbenlinien treten alljährlich im Freiland in sämtlichen Entwicklungsstadien der Weizenpflanze auf. Im Grade ihrer Ausdehnung finden wir lokal sowohl wie zu den verschiedenen Zeiten deutliche Unterschiede, die, wie im vorhergehenden Abschnitt experimentell gezeigt wurde, hauptsächlich durch die Temperatur und den Nährstoffgehalt des Bodens verursacht sind (siehe Abb. 8).

Im Jugendstadium der Weizenpflanzen begegnen wir im Freiland ähnlichen Krankheitsbildern wie an Keimpflanzen im Gewächshaus. Die Nekrotisierung von Teilen des ersten Blattes setzt etwa drei Wochen nach dem Auflaufen ein, schreitet aber im Freiland verhältnismäßig rascher vorwärts als im Gewächshaus (Lichtüberschuß!), so daß die nekrotischen Weizenlinien schon wenige Tage nach dem Sichtbarwerden der ersten Verfärbungen ein lebhaft gelbes Aussehen aufweisen. Die ersten Blätter sterben frühzeitig ganz oder teilweise ab. Da die inzwischen neu gebildeten Blätter auch unter optimalen Verhältnissen für die Entwicklung der Nekrosen eine zeitlang normal-grünes Aussehen haben und assimilieren können, so entwickelt sich die Pflanze weiter. Sie wird auch in der Folgezeit in ihrem vegetativen und reproduktiven Aufbau bei normalen Bodenverhältnissen wenig gehemmt. Zur Zeit des Schossens und Ährenschiebens zeigen sich, ebenfalls zuerst auf den untersten Blättern, meist an der Spitze beginnend, nach einiger Zeit mehr oder weniger gelbe Flecken (Abb. 8, 1), die gegen das grüne Gewebe scharf abgegrenzt sein und dadurch der Blattspreite ein lebhaft marmoriertes Aussehen geben können. Je nach den Witterungsverhältnissen verbreiten sich die gelben Flecken schnell, verschmelzen miteinander (Abb. 8, E-G) und bringen das Blatt teilweise oder vollständig zum Absterben (Abb. 8, H). In anderen Fällen, z. B. bei raschem Wechsel von kühler zu warmer Witterung, dehnen sich die Flecken zunächst nicht weiter aus, und das Blatt behältsein gesprenkeltes Aussehen (Abb. 8, G). Auf den höher inserierten Blättern begegnen wir in der Folgezeit nacheinander denselben Fleckentypen. Auch das zu oberst inserierte Blatt bleibt von Fleckenbildung und Nekrotisierung nicht verschont, doch kann hier die Nekrosebildung unter Umständen eingeschränkt werden, weil zur Zeit der Entwicklung und Entfaltung der beiden obersten Halmblätter vielfach schon höhere Temperaturen vorherrschen.

Die Temperaturabhängigkeit der Nekrose, die im Gewächshaus experimentell nachgewiesen wurde, läßt sich auch im Freiland deutlich beob-

achten. So tritt bei plötzlichem Umschlag von kühler zu trocken-warmer Witterung ein Stillstand in der Ausbreitung vorhandener Flecken oder Nekrosen ein. Die Fleckigkeit und Nekrotisierung war z.B. im Sommer 1933 durchweg bei Kolbenlinien wesentlich stärker als im trocken-heißen Sommer 1934. Besonders war es im letzten Jahre schwer möglich, erbliche Nekrose von den durch anormale Trockenheit hervorgerufenen Absterbeerscheinungen und Vergilbungen der Blätter zu unterscheiden.

Die im Vorstehenden mitgeteilten Beobachtungen sind mit nekrotischen Linien von Kolbenweizen gewonnen. Bei diesen ist eine zuverlässige Beurteilung von genotypisch fundierten Nekrosen im Freiland dadurch möglich, daß gleichzeitig normale Linien zum Vergleich zur Verfügung stehen. Die einwandfreie Vergleichsmöglichkeit wird auch nicht durch eine zweite Art von Chlorophyllveränderungen der Blätter von Kolbenweizen beeinträchtigt. Diese treten in erster Linie auf Halmblättern in einer eigenartigen bis zum Quittengelb sich steigernden Verfärbung der Wandungen der Sklerenchymstränge zutage (Abb. 8, J-L). Sie führen nicht zum Absterben von Blatteilen, sondern geben dem Blatt nach und nach nur eine auffallende Gelb-Streifung (Abb. 8, L). Auf nicht geschoßten Pflanzen wurden diese Verfärbungen bisher noch nicht beobachtet. Normale und nekrotische Linien unterliegen dem Verfärbungsprozeß in ähnlicher Weise. Mitunter können die Verfärbungen auch fast vollständig fehlen oder nur sehr schwach ausgebildet sein. Wir können sie hauptsächlich an Kolbenweizen feststellen, der auf stickstoffarmem Boden wächst.

Es handelt sich hierbei um eine charakteristische Blattverfärbung, die noch anderen Weizensorten eigen ist. Sie wurde auch von Rudorf und Job (44) bei Heines Kolbenweizen als eine Störung für die Rostbonitierung notiert. Inwieweit an dieser Chlorophyllveränderung Virosen beteiligt sind, bedürfte der Nachprüfung. Bestimmte Beobachtungen deuten eher auf Ernährungsstörungen hin, auf welche die Sorten wahrscheinlich verschieden reagieren.

Auf anderen Sorten ist es zunächst im Freiland kaum möglich, erblich bedingte Blattnekrosen von den Absterbeerscheinungen und Nekrosen, die durch ungünstige Außenfaktoren hervorgerufen sind, zu unterscheiden (vgl. Abb. 8, B—C mit Abb. 8, E—G). Dies geht deutlich auch aus folgender Versuchsreihe hervor: Im Sommer 1934 wurden mehr als 500 Sommerweizensorten aus den verschiedenen Triticum-Reihen zu verschiedenen Zeitpunkten auf dem Versuchsfeld Gliesmarode auf das Vorhandensein von auffallenden Blattnekrosen beobachtet. Als Vergleichsmaßstab dienten nekrotische und normale Linien von Kolbenweizen, die in das Sortiment eingestreut waren. Von den beobachteten 500 Sorten zeigten 92 Sorten mehr oder weniger ausgedehnte Blattnekrosen auf sämtlichen oder einem Teil der Blätter; das Krankheitsbild unterschied

sich hier meist kaum von demjenigen der nekrotischen Kolbenlinie XI-2, während die normale Kolbenlinie XI-1 nur auf den unteren Blättern Vergilbungen, wie wir sie auch sonst auf allen Sorten finden, zeigte.

Die in den Monaten Oktober bis November 1934 wiederholt im Gewächshaus bei etwa 12--15°C durchgeführte Beobachtung dieser

Abb. 9.
Erbliche Flecken- und Nekrosetypen
verschiedener Weizenarten im Freiland.

(2/3 verkleinert.)

- C E
- A Fleckentypus bei Halmblättern von Triticum durum melanopus.
- B Fleckentypus bei Triticum polonicum levissimum, oblongum und nigrobarbatum.
- (! Desgleichen nekrotische Kolbenlinie (Triticum vulgare lutescens) zur gleichen Zeit und im gleichen Entwicklungsstadium.
- Nekrosetypus von "Ridit" (Triticum vulgare lutescens), nur in älteren Entwicklungsstadien auftretend, an Keimpflanzen fehlend.
- E Nekrosen auf resistenter Weizensorte nach starker Gelbrostinfektion (zum Vergleich).

92 Sorten, die im Felde Nekrosen aufwiesen, ergab, daß neben der nekrotischen Kolbenlinie XI—2 nur fünf Sorten im Gewächshaus an Keimpflanzen Blattnekrosen zeigten. Die Beobachtung erstreckte sich auf die ersten drei Blätter. Die ganz überwiegende Mehrzahl der Sorten ist also im Jugendstadium nicht mit erblichen Nekrosen behaftet. Ob die

im Freiland beobachteten Nekrosen der übrigen Weizensorten genotypisch fundiert sind, ließe sich im einzelnen nur durch mehrjährige Feldbeobachtungen feststellen. Für die Varietäten Triticum persicum fuliginosum, Triticum durum Schimperi und Ridit (Triticum vulgare lutescens) z. B. dürfte dies zutreffen (vgl. Abb. 9), da sie alljährlich im Freiland dieselben eigentümlichen marmorierenden Nekrosen aufweisen, und zwar in erster Linie an geschoßten Pflanzen. An jungen Pflanzen im Gewächshaus fehlen sie.

Ob wir im Freiland ebenfalls deutlich zwischen den Nekrosen vom Kolbentypus und denjenigen vom durum- und polonicum-Typus zu unterscheiden vermögen, kann gegenwärtig noch nicht gesagt werden, weil die durum- und polonicum-Weizen nur in einem Jahr genauer beobachtet wurden. Hier war, wie aus den obigen Befunden bereits hervorgeht, bisher kein eindeutiger Unterschied zu verzeichnen (vgl. Abb. 9).

#### VI. Einfluß erblicher Nekrosen auf den Ertrag der Weizenpflanze.

Das Auftreten normaler und kranker Sippen innerhalb derselben Weizensorte, wie wir bei Kolbenweizen feststellen konnten, ermöglicht uns eine vergleichende Prüfung des Einflusses der Krankheit während der vegetativen und reproduktiven Entwicklungsperioden der Weizenpflanze. Dieser Vergleich ist natürlich experimentell nicht vollständig gesichert, weil normale und kranke Linien noch sonstige physiologische Unterschiede zeigen können. Wenn trotzdem der Versuch unternommen werden soll, Daten hinsichtlich der reproduktiven Beeinflussung durch erbliche Nekrose zu erhalten, so geschieht es auch, um gleichzeitig einen Anhaltspunkt für die durch Rostnekrosen verursachten Ertragsschädigungen zu gewinnen. Gerade hier ist es bekanntlich sehr schwierig, einwandfreie Kontrollparzellen zu erzielen.

# Tabelle 7. Ertrag von nekrotischen Linien im Vergleich zu gesunden bei Kolbenweizen.

Aussaat: 28. März 1933. Ernte: 12. August 1933. Boden: Sandiger Lehm. Düngung: Nur Grunddüngung.

1) 17	Korng	ewicht g	Strong	gewicht S	Tausendkorngewicht g	
Parzellen-Nummer	Normale Linie	Nekrotische Linie	Normale Linie	Nekro- tische Linie	Normale Linie	Nekro- tische Linie
a b c	3890 3660 3430	3250 2920 2870	7010 7040 6550	5450 5480 5130		
m	3660 ± 133	3013 <u>+</u> 122	6867	5858	43,5	41,0

In Tabelle 7 ist das Ernteergebnis eines Versuchs zusammengestellt, der im Jahre 1933 auf dem Versuchsfeld Gliesmarode angelegt war. Es

standen je drei Parzellen von 10 qm Größe der normalen Linie XI-1 und der nekrotischen Linie XI-2 von Kolbenweizen abwechselnd nebeneinander. Der Versuch war ursprünglich nicht zum Zwecke einer Ertragsbestimmung ausgesät worden, doch traten im Laufe des Frühjahrs und Sommers auf sämtlichen Blättern der Kolbenlinie XI-2 derart starke und ausgedehnte Nekrosen auf, daß eine Auswertung von Interesse erschien. Bei der Ernte wurde leider versäumt, eine spezielle Ertragsanalyse vorzunehmen, sonst wäre das in Tabelle 7 mitgeteilte Ergebnis wohl noch klarer und eindeutiger. Der Kornertrag liegt für die nekrotischen Parzellen um 17,7% niedriger als bei den normalen, die Differenz im Strohertrag ist noch etwas höher.

Eine Wiederholung des Versuchs zur Bestimmung der Ertragsausfälle durch erbliche Nekrosen im Sommer 1934 litt der anormalen Trockenheit des letzten Jahres und konnte nicht ausgewertet werden. Dagegen gelang es im Jahre 1935, eine exakte Ertragsanalyse mit einigen Parzellen der normalen und nekrotischen Kolbenlinien durchzuführen, deren Ergebnisse in Tabelle 8 dargestellt sind.

Tabelle 8. Vergleichende Ertragsanalyse einer normalen und nekrotischen Linie von Kolbenweizen.

Aussaat: 16. April 1935.

Kornabstand: 20:5 cm

Ernte: 13. August 1935.

Boden: Leichter sandiger Lehm.

Parzellengröße: 1 qm

Vorfrucht: Wintergerste.

Zahl der Teilstücke: 2

Düngung: 50 kg 40-prozentiges Kalisalz, 50 kg Superphosphat, 20 kg Leunasalpeter pro 1/4 ha kurz vor der Aussaat verabreicht.

Zur Ertragsanalyse sind sämtliche Pflanzen beider Teilstücke herangezogen.

-		
Ertragskomponenten	Normale Linie	Nekrotische Linie
Pflanzenzahl	445,5 + 9,5	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
Gesamt-Korngewicht (g)	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
1000-Korngewicht (g)	$\begin{array}{c} 1,136 \pm 0,026 \\ 5,960 \pm 0,048 \\ 10,621 \pm 0,086 \end{array}$	$\begin{array}{c} 39,2 & \pm \cdot & 6,4 \\ 1,165 \pm & 0,045 \\ 5,843 \pm & 0,079 \\ 10,366 \pm & 0,209 \\ 4,86 & \pm & 0,2 \end{array}$
Fruchtbare Ährchen je Ähre <sup>2</sup> ) Spindellänge (cm) <sup>2</sup> )	14,56 9,93	16, <b>4</b> 5 10,01

Der Versuch lag in ein Weizensortiment eingestreut. Die Nekrosen wurden schon bald nach dem Auflaufen sichtbar und entwickelten sich

<sup>1)</sup> Mit Wurzel, ohne Spindel.

<sup>2)</sup> Nur für je eine Parzelle ermittelt.

nach dem Schossen auch auf den Halmblättern in ausgedehntem Maße. Auf der normalen Kolbenlinie zeigten sich, abgesehen von den üblichen Vergilbungen der unteren Blätter, keine krankhaften Veränderungen

Aus Tabelle 8 ergibt sich für die nekrotische Linie ein Verlust im Korngewicht von 10,35% pro Einzelpflanze gegenüber der normalen Linie von Kolbenweizen. Der Ertragsausfall im Korn ist auf die schwächere Bestockung und das niedrigere Tausendkorngewicht der nekrotischen Linie zurückzuführen. Der Verlust wird durch eine größere Zahl fruchtbarer Ährchen, hauptsächlich von Gipfelährchen, bei der nekrotischen Linie nur zum geringen Teil wieder ausgeglichen.

Zu denselben Ergebnissen führte auch die Ertragsanalyse mit der Wiederholung des in Tabelle 8 dargestellten Versuchs, die in einiger Entfernung davon auf demselben Schlage angelegt war. Hier betrug die Differenz im Korngewicht pro Einzelpflanze zwischen normal und nekrotisch sogar 20,8 %. Die lokale Verschiedenheit der Ertragsverluste durch Nekrosen geht noch aus einer weiteren Versuchsreihe des Jahres 1935 auf dem Versuchsfelde Gliesmarode hervor. In diesem Versuch wurde der Ertrag von größeren Parzellen (12,5 qm mit vierfacher Wiederholung) verglichen und ein ebenfalls fehlerkritisch gesicherter Verlust im Gesamt-Korngewicht von 7,3 %, im Tausendkorngewicht ein solcher von 6,9 % bei der nekrotischen Linie ermittelt.

Wesentlich größer noch waren die Unterschiede im Korn- und Strohgewicht auf den verschiedenen Parzellen des Dauerdüngungsversuchs, der im Jahre 1933 ausgewertet wurde (Vgl. Abb. 4—7, S. 559—561). Auch hier war der Minderertrag der nekrotischen Linie in allen Düngerkombinationen eine Folge schwächerer Bestockung und niedrigeren Tausendkorngewichtes. Wenn auch die auf den Dauerdüngungsparzellen gewonnenen Ergebnisse praktisch kaum Bedeutung besitzen können, so stützen sie aber andererseits die Hypothese, daß die Ertragsverluste bei der nekrotischen Linie von Kolbenweizen in erster Linie oder ausschließlich durch die Nekrose der Blätter verursacht werden und nicht auf sonstige Unterschiede beider Weizenlinien zurückzuführen sind. Sie vermögen deshalb auch Hinweise auf die durch Rostnekrosen bewirkten Ertragsausfälle des Weizens zu geben.

### VII. Veränderungen im Typus der Rostinfektion durch erbliche Nekrosen.

Die Sommerweizensorte Heines Kolben ist gegen die Gelbrostrassen 1,9 usw. anfällig (Typus IV), gegen andere, wie Rasse 2, 3, 4 usw. resistent (Gaßner und Straib, 22—24). Das gleiche gilt auch für die aus dieser Sorte von uns isolierten normalen Linien. Bei den nekrotischen Linien tritt uns Typus IV nur entgegen, wenn die Prüfung bei Temperaturen vorgenommen wird, bei denen die erbliche Nekrose nicht mehr in Erscheinung treten kann, die also dauernd über 15 °C liegen. Bei den Rassen

1 oder 9 bewirken Temperaturen über 15°, solange sie die 20°-Grenze nicht überschreiten, noch keine wesentliche Veränderung des Typus IV auf Heines Kolbenweizen (Gaßner und Straib 22, 24).

Werden dagegen die mit Rasse 9 usw. beimpften Pflanzen nekrotischer Kolbenlinien dauernd bei Temperaturen unterhalb 15°C gehalten, so bilden sich neben unregelmäßigen Pustelausbrüchen noch mehr oder weniger ausgedehnte Flecken und Nekrosen. Nach den oben über den Einfluß der Temperatur auf das Hervortreten der erblichen Nekrosen an Kolbenlinien mitgeteilten Ergebnissen müssen die Nekrosen nach Gelbrostinfektion mit Rasse 9 umso stärker vorhanden sein, je später die Impfung vorgenommen wird, je mehr also die erblichen Nekrosen bereits Zeit hatten, sich zu entwickeln (vgl. Abb. 10, A, C, D, E).

Bei Impfung mit anderen Gelbrostrassen, z. B. Rasse 4, zeigt die normale Linie, wenn sie bei etwa 15°C gehalten wird, mehr oder weniger scharf umrissene gelbe Flecken und Nekrosen (Abb. 10, B). Gleichzeitig geimpfte nekrotische Linien ergeben ähnliche Krankheitsbilder, sodaß wir Rostnekrosen und erbliche Nekrosen in diesem Falle kaum unterscheiden können (Abb. 10, B, E).

Praktisch spielt dieser bei einzelnen Pflanzen von Kolbenweizen nachgewiesene Fall von erblicher Nekrose für die Beurteilung des Gelbrostverhaltens dieser Sorte keine besondere Rolle. Bedeutungsvoller für die Rostbonitierung ist die erbliche Nekrose der auf S. 548 aufgeführten durum- und polonicum-Weizen, vor allem deshalb, weil wir nicht in der Lage sind, durch entsprechende Temperatursteigerung die erblichen Nekrosen zurückzudrängen, damit das Rostbild ungestört hervortreten kann. Wir wollen einige Beispiele herausstellen.

Die Gelbrostrassen 23 und 24, welche auf Gerste gefunden wurden (Straib, 50), infizieren die meisten Weizensorten überhaupt nicht; die Sorten sind immun. Wenn wir Sorten wie Triticum durum melanopus prüfen, so können wir nicht den absoluten Typus i erhalten, sondern es wird durch die erbliche Blattnekrose dieser Sorte stets Typus O vorgetäuscht, auch in Fällen, in denen vollkommene Immunität vorliegt (Abb. 10, F). Das gleiche gilt für die Prüfung dieser Sorte gegen andere Rostarten. Gabner und Kirchhoff (20) fanden bei Prüfungen verschiedener Weizensorten gegen Herkünfte des Roggenbraunrostes (Puccinia dispersa), daß sich beispielsweise Triticum durum melanopus (2035) von sämtlichen Sorten stets durch die ausgedehntesten Nekrosen auszeichnete. hierbei dürfte es sich kaum um die Folge der Rostinfektion handeln, sondern um erbliche Nekrosen. Der Anteil der Rostinfektion an den Nekrosen könnte durch gleichzeitig aufgestellte nichtinfizierte Kontrollpflanzen beurteilt werden. Da nach unseren Erfahrungen die Infektion mit Roggenbraunrost auch noch bei verhältnismäßig hohen Temperaturen gelingt, so wäre die Frage zu prüfen, ob bei Impfung der Pflanzen kurz

572 W. Straib:

nach Entfaltung des ersten Blattes und nachfolgender Aufstellung bei 20° bis 25° C der Braunrostausbruch etwa den Nekrosen vorauseilt.

In früheren Gelbrostinfektionsversuchen (Straib, 48) war für Triticum durum melanopus bei den meisten Rassen Typus I—II bonitiert. Nach den neueren Untersuchungen liegt aber nur scheinbare Resistenz vor, die sich vor allem nach dem Pflanzenalter beim Impfen und der Temperatur nach dem Impfen richtet. Impfen wir das erste Blatt kurz



Abb. 10. Veränderungen im Typus der Gelbrostinfektion

- A Nicht infizierte Pflanzen der Kolbenlinie XI-1.
- B Normale Kolbenlinie XI-1 mit Gelbrostrasse 4 infiziert (Infektionstypus 0).
- C Normale Kolbenlinie XI-1 mit Gelbrostrasse 9 infiziert (Infektionstypus IV).
- Nekrotische Kolbenlinie XI-2 mit Gelbrostrasse 9 infiziert (Resistenter Infektionstypus II).
- E Nicht geimpfte Pflanzen der nekrotischen Kolbenlinie XI-2 im vorgeschrittenen Stadium der Nekroseentwicklung.

nach seiner Entfaltung etwa mit Gelbrostrasse 9, so erhalten wir bei 12—15° den x-Typus der amerikanischen Forscher (Abb. 10, G), d. h. abwechselnd Blatteile mit starken Pustelausbrüchen ohne Verfärbungen und Nekrosen ohne Pusteln, die aber konstitutionell bedingt sind. Bei Impfung mit anderen Rassen, z. B. Rasse 15, beobachten wir neben Rostnekrosen auch erbliche Nekrosen; scheinbar tritt also eine Resistenzsteigerung ein (Abb. 10, H). Damit soll natürlich keineswegs gesagt sein, daß der soge-



durch erbliche Nekrosen bei 13-15 ° C im Gewächshaus. - Natürliche Größe.

- F Nicht infiziertes 1. Blatt von Triticum durum melanopus (2035).
- G Mit Gelbrostrasse 9 infiziertes Blatt von Triticum durum melanopus (x-Typus: Typus IV und scheinbar Typus 0 abwechselnd).
- H Mit Gelbrostrasse 15 infiziertes Blatt von Triticum durum melanopus (2035). Resistenter Typus, verstärkt durch erbliche Nekrose.
- J Mit Gelbrostrasse 15 infiziertes Blatt von Triticum polonicum levissimum (2044). Hierzu nicht geimpfte Kontrollpflanzen in Abb. 3, Bl. D - E.

574 W. Straib:

nannte x-Typus nicht auch auf normalen Weizenstämmen aufzutreten vermag. Es wird aber unter Umständen zweckmäßig sein, in Fällen, in denen uns der x-Typus zum ersten Male begegnet, gleichzeitig nichtgeimpfte Kontrollpflanzen zur Verfügung zu haben.

Die Zahl der Weizenvarietäten mit erblichen Blattnekrosen ist verhältnismäßig gering; immerhin erkennen wir aus den angeführten Beispielen, daß Ausnahmefälle vorliegen können, welche die Kenntnis erblicher Blattnekrosen für die Rostinfektion nicht nebensächlich erscheinen lassen. Dies gilt auch für Freilandbeobachtungen, wie der Vergleich der in Abb. 8, A—H dargestellten Nekrosetypen deutlich zeigt. Die Prüfung der Frage erblich bedingter Nekrosen, die nur in älteren Entwicklungsstadien manifest werden, wäre hierbei von besonderem Interesse (vgl. Abb. 9, D)

## VIII. Vererbung.

## a) Kreuzungsmaterial.

Aus den Beobachtungsreihen, deren Ergebnisse in Tabelle 1, S. 546, zusammengestellt sind, wurden am 26. März 1929 eine Anzahl nekrotische und normale Pflanzen von Kolbenweizen zwecks Prüfung ihrer genetischen Konstitution ins Freiland pikiert und am 19. August 1929 geerntet. Die erste Prüfung ihrer Nachkommenschaft wurde am 1. November 1929 eingeleitet (Versuch 634). Sie ergab konstant nekrotische und konstant normale Linien. Um Material für weitere Untersuchungen zu erhalten, wurden einige Linien auf dem Versuchsfeld Gliesmarode vermehrt. Insgesamt kamen im Jahre 1930 72 Linien zum Anbau, wovon 13 Linien in ihrer Antezedenz Nekrosen gezeigt hatten, während 59 Linien gesund geblieben waren. In der weiteren Nachkommenschaftsprüfung, die wiederum im Frühjahr 1931 im Gewächshaus durchgeführt wurde (Versuch 781), erwiesen sich sämtliche normalen und nekrotischen Linien als konstant. Gesicherte graduelle Unterschiede in der Intensität und Ausdehnung der Nekrosen ließen sich in diesen Prüfungen nicht feststellen. Aus den in dieser Prüfungsreihe beobachteten Linien gelangten im Jahre 1931 13 normale und 12 nekrotische Linien zur Weitervermehrung. Sie gaben gleichzeitig das Elternmaterial für verschiedene reziproke Kreuzungen von gesunden mit nekrotischen Linien ab. Im folgenden Jahre wurden von diesen Linien nochmals vier normale und fünf nekrotische Linien mit größerer Individuenzahl auf Konstanz geprüft. Später kamen dann nur noch zwei Linien, je eine normale und eine nekrotische Linie zur Vermehrung. Es sind dies die im Vorhergehenden bereits nach verschiedener Richtung geprüften Kolbenlinien XI-1 und XI-2, die sich bislang als konstant erwiesen. Rückmutationen, wie sie bei rezessiven Chlorophyllmutanten (Oehlkers, 41) häufig sind (vgl. auch Neatby, 38), wurden zu keinem Zeitpunkt beobachtet, obwohl bislang sechs Generationen herangezogen wurden. Unsere nekrotische Linie zeichnet sich demnach durch Stabilität ihres Genotypus aus.

Über die Mutationshäufigkeit lassen sich aus den Ergebnissen der in Tabelle 1, S. 546 dargestellten Prüfungen kaum genaue Anhaltspunkte gewinnen, weil das vom Züchter abgegebene Saatgut vielfach ein Liniengemisch darstellt, und weil wir vor allen Dingen über den Zeitpunkt der vermutlichen Mutation keine Anhaltspunkte besitzen.

Unsere Erblichkeitsuntersuchungen wurden bislang ausschließlich mit Kolbenlinien durchgeführt, weil sie am frühesten und über einen längeren Zeitraum auf Konstanz beobachtet sind und damit eine der wichtigsten Voraussetzungen für eine exakte genetische Analyse erfüllen. Ferner bietet der Nekrosetypus dieser Sorte dadurch, daß der größte Teil der Blattspreite unter bestimmten Außenbedingungen auffallende nekrotische Verfärbungen zeigt, gegenüber den Nekrosetypen beispielsweise der durum- oder polonicum-Weizen unzweifelhafte Vorteile bei der Beurteilung des Verhaltens der Nachkommenschaften.

Tabelle 9.

Verhalten der F<sub>1</sub>-Generation aus reziproken Kreuzungen
von normalen × nekrotischen Linien aus Heines Kolbenweizen.
Versuchstemperatur: 12 bis 15° C.

Entwicklungsstadium am Tage der Ablesung: 3 Blätter.

Versuchs-Nummer	Tag der Aussaat	Tag der Ablesung	Nummer der Kreuzung	K Elter	reuzung Elter		halten ler neration suds
882	8. Januar 1932	16. Februar 1932	31 100 31 102 31 108		<ul> <li>× nekrotisch</li> <li>× normal</li> <li>× nekrotisch</li> </ul>	9 18 7 12	normal normal normal normal
911	13, April . 1932	12. Mai 1932	31 108 31 107 31 110 31 112	nekrotisch normal normal normal	× normal × nekrotisch × nekrotisch × nekrotisch	9 7 ·8 2	normal normal normal normal
1049	18. September 1933	25. Oktober 1933	33249 33250 33248 33244	normal normal nekrotisch nekrotisch	× nekrotisch × nekrotisch × normal × normal	14 14 9 16	normal normal normal normal
1083	18. Dezember 1933	1. Februar 1934	33 <sup>245</sup> 33 <sup>246</sup> 33 <sup>260</sup> 33 <sup>261</sup>	nekrotisch nekrotisch normal normal	<ul> <li>× normal</li> <li>× normal</li> <li>× nekrotisch</li> <li>× nekrotisch</li> </ul>	13 14 10 12	normal normal normal normal
1095	22. Januar 1934	12. März 1934	33258 33258	normal nekrotisch	$\times$ nekrotisch $\times$ normal	14 12	normal normal
					Zusammen	200	normal

## b) F<sub>1</sub>-Generation.

Eine größere Anzahl von reziproken Kreuzungen zwischen normalen und nekrotischen Linien von Kolbenweizen, die durch Selektion aus Originalsaatgut (vergleiche vorhergehenden Abschnitt) hervorgegangen waren, kam im Sommer 1931 und 1933 zur Ausführung. Die  $F_1$ -Generation wurde bei Temperaturen von 12 bis 15 °C bis zum 3. Blattstadium im Gewächshaus herangezogen. Zu jeder Versuchsreihe wurden mehrere Töpfe einer normalen und nekrotischen Linie als Kontrolle eingelegt, bei einigen Prüfungen daneben diejenigen Linien, welche als Kreuzungseltern gedient hatten. Die Ergebnisse verschiedener Prüfungen sind in Tabelle 9 zusammengestellt.

Wir erkennen, daß normal über nekrotisch vollständig dominiert. Niemals konnten an insgesamt 200 geprüften  $F_1$ -Pflanzen Spuren irgendwelcher Verfärbungen beobachtet werden, während die nekrotischen Kontrollinien stets ausgedehnte Blattnekrosen erkennen ließen. Ein Unterschied zwischen den reziproken Kreuzungen lag nicht vor, so daß wir schließen dürfen, daß die Anlage zur Nekrose durch ein Kerngen vererbt wird. Die Dinge liegen hier wesentlich klarer als bei der Vererbung des "blotch leaf" bei Mais (Emerson, 10) und Hafer (Ferdinandsen und Winge, 12), wo die  $F_1$ -Generation nicht vollständig einheitlich war, sondern wo neben überwiegend normalen  $F_1$ -Pflanzen auch gefleckte auftraten. Es fragt sich aber, ob diese Verschiedenheiten im Verhalten der  $F_1$ -Generation nicht auf Heterozygotie des Elternmaterials beruhten.

## c) F<sub>2</sub>-Generation.

Die Faktorenanalyse war anfänglich dadurch erschwert, daß noch keine Gewächshäuser vorhanden waren, die sich längere Zeit hindurch auf Temperaturen unterhalb 15° C halten ließen. Die in Tabelle 10 zusammengestellten Ergebnisse verschiedener Prüfungsreihen zeigen eindeutig. daß wir ohne genaue Temperaturkontrolle zu falschen Schlußfolgerungen bezüglich der Zahl der beteiligten Erbfaktoren kommen müssen. Wir geben diese vergleichende Darstellung der Prüfung bei verschiedener Temperatur besonders auch im Hinblick auf die Ergebnisse von Emerson (10) sowie Ferdinandsen und Winge (12). Da keiner dieser Autoren in seiner Faktorenanalyse des "blotch leaf" die Temperatur entsprechend berücksichtigt hat, so bleibt die Frage über die tatsächliche Zahl der beteiligten Faktoren so lange offen, wie wir nicht wissen, in welchem Maße das Hervortreten und der Phänotypus von "blotch leaf" sowohl bei Mais wie auch bei Hafer von der Temperatur beeinflußt wird. Zwar berücksichtigt Emerson bereits den Einfluß des Lichtes, doch kann dem Temperaturfaktor nach den vorliegenden Ergebnissen der erblichen Nekrose des Weizens noch größere Bedeutung zukommen. Falls "blotch leaf" bei Mais und bei Hafer entwicklungsgeschichtlich Erkrankungen gleicher

Tabelle 10. Verhalten der F<sub>3</sub>-Generation aus reziproken Kreuzungen normaler×nekrotischer Linien von Kolbenweizen bei verschiedener Temperatur.

	Versuch	Versuch	Versuch	Versuch	Versuch
	919	931	938	974	1162
Versuchsbeginn	12. Sept. 1932	27. Okt. 1932	23. Nov. 1932	27. Febr. 1933	22. Nov. 1934
	18. Okt. 1932	17. Dez. 1932	3. Jan. 1933	3. April 1933	9. Jan. 1935
Mittl. tägl. Max.		17,7 °	17,1 °	14,7°	13,1 °
Mittl. tägl. Min.		12,9 °	12,1 °	10,7°	10,9 °
Tagesmittel	15,5 °	15,4 °	15,0 °	13,1°	11,8 °

Versuchserde: Ackerboden des Gliesmaroder Versuchsfeldes (Sandiger Lehmboden).

Versuchs-Nummer	Krenzungs-Nummer	Kreuzung	Zahl der F.Familien	Gesamtzahl der beobachteten F <sub>2</sub> -Pflanzen	Normale Pflanzen	Nekrotische E Pflanzen R	Spaltungsverhältnis Normal : nekrotisch
919 919 931 938	31 111 31 104 31 102 31 105	normal × nekrotisch nekrotisch × normal nekrotisch × normal normal × nekrotisch	3 4 15 10	842 643 1372 2251	687 <b>5</b> 22 1192 2036	154 121 180 215	81,7 °/ <sub>n</sub> : 18,8 °/ <sub>n</sub> 81,2 °/ <sub>0</sub> : 18,8 "/ <sub>n</sub> 86,9 °/ <sub>0</sub> : 13,1 °/ <sub>0</sub> 90,4 °/ <sub>0</sub> : 9,6 °/ <sub>0</sub>
		usammen 1. Serie: >15° C	32	5107	4487	670	86,8 °/ <sub>0</sub> : 18,2 °/ <sub>0</sub>
974 1162 1162 1162	31 100 33 245 33 245 33 261	normal × nekrotisch nekrotisch × normal normal × nekrotisch normal × nekrotisch	8 7 10 7	556 304 376 175	432 241 284 127	124 63 92 48	77,7 % : 22,8 % 79,3 % : 20,7 % 75,5 % : 24,5 72,6 % : 27,4 %
	Z	usammen 2. Serie: (15° C	32	1411	1084	327	76,8 °/ <sub>0</sub> : 23,2 °/ <sub>0</sub>

Natur darstellen, so müssen aber die Befunde von Emerson dem tatsächlichen Ergebnis am nächsten kommen, weil dieser Autor wenigstens dem modifizierenden Einfluß von Außenfaktoren teilweise Rechnung trägt.

Aus Tabelle 10 geht in Übereinstimmung mit unseren früheren Feststellungen über den Einfluß der Temperatur eindeutig hervor, daß die Zahl der nekrotischen Individuen in den einzelnen F<sub>2</sub>-Familien mit steigender Temperatur abnimmt. Die Verhältnisse liegen hier ähnlich wie bei der Vererbung der Gelbrostresistenz (Straib, 49). Nur das in den Versuchen 974 und 1162 bei optimalen Temperaturen erzielte Ergebnis wird in F<sub>3</sub> bestätigt. Hierdurch wird bereits wahrscheinlich gemacht, daß bei der Vererbung der Nekrose ein einziger (rezessiver) Faktor wirksam ist.

Bei der Prüfung der F<sub>2</sub>-Familien fällt auf, daß die Blattnekrosen der einzelnen F<sub>2</sub>-Pflanzen auch bei optimaler Temperatur vielfach schwächer sind als bei den gleichzeitig geprüften Elternlinien. Von einer Klassifizierung

578 W. Straib:

der einzelnen F<sub>2</sub>-Pflanzen nach dem Grad der Nekrosen wurde mit Rücksicht auf die Variabilität der Nekrosetypen zunächst abgesehen.

## d) F<sub>3</sub>-Generation.

Die Prüfung zahlreicher  $F_3$ -Familien bietet uns die Möglichkeit, die  $F_3$ -Befunde sicherzustellen. In Tabelle 11 sind die Ergebnisse von zwei verschiedenen Versuchsreihen reziproker Kreuzungen von Kolbenlinien zusammengestellt. Die in  $F_2$  bereits erhaltene monohybride Spaltung wird in diesen Versuchsreihen bestätigt. Nur in der Prüfung der Nachkommenschaften der Kreuzung normal × nekrotisch (Versuch 1109) ist die Sicherheitsgrenze überschritten, doch müssen wir die geringe Familienzahl bei der Auswertung dieses Ergebnisses berücksichtigen.

Gleichzeitig wurden noch die Spaltungsergebnisse der heterozygotischen F<sub>3</sub>-Familien ausgewertet; hierbei wird das 3:1-Verhältnis von normal: nekrotisch kaum befriedigend erreicht, und die Zahl der nekrotischen Pflanzen bleibt etwas hinter der Erwartung zurück. Ein Widerspruch zu monohybrider Spaltung liegt aber nirgends vor. Voll-

-	Versuch 1053	Versuch 1068	Versuch 1109
Versuchsbeginn	27. Septemb. 1933	17. Novemb. 1933	2. März 1934
	8. November 1933	29. Dezemb, 1933	13 April 1934
Mittleres tägliches Maximum		13,1°	12,0°
Mittleres tägliches Minimum		10,7°	8,9°
Tagesmittel	14.50	11.70	$10.5^{\circ}$

Versuchserde: Ackerboden des Gliesmaroder Versuchsfeldes (Sandiger Lehm).

		Ab- stammung	beobach-	de	Verl er F <sub>8</sub> .	ialter Fami				g der F <sub>3</sub> -Bamilien		
Versuchs- Nr	Kreuzung	F <sub>1</sub> -Nr. F <sub>2</sub> -Nr.	Gesamtzahl der bec teten F <sub>3</sub> -Familien	homozygot normal	homozygot nekrotisch	heterozygot	$\frac{D}{m}$ für K = 4 (2:2)	Gesamtzahl der Pflanzen	normale Pflanzen	Nekrotische Pflanzen	D für K = 4 (8:1 Verhältnis normal: nekrotisch)	
1053+1068 1053+1068 1109 1109	normal × nekrotisch	31108 949-	7 90 4 75	41 27 21 20	45 22 17 20	88 41 37 20	0,15 0,84 0,11 2,58	2467 1172 428 224	929 315	243 113	4,45 8,42 0,65 2,61	
		Zusammen	399	109	104	186	1.35	4291	3341	950	4.82	

ständige Übereinstimmung kann hierbei mit Rücksicht auf die relativ geringe Pflanzenzahl — etwa 20 bis 30 Pflanzen je Familie — auch kaum erwartet werden.

Das Ergebnis einer weiteren Prüfungsreihe mit  $F_3$ -Familien ist in Tabelle 12 dargestellt. Hier wurden die Nachkommenschaften von sämtlichen normalen  $F_2$ -Pflanzen des Versuchs 974 geprüft. Die Ergebnisse mit den gleichzeitig beobachteten Nachkommenschaften der nekrotischen  $F_2$ -Pflanzen dieses Versuchs brauchen in Tabelle 12 nicht mehr wieder-

#### Tabelle 12.

Verhalten von 60 heterozygotisch gesunden  $F_9$ -Nachkommenschaften in der  $F_3$ -Generation einer Kreuzung von normaler $\times$  nekrotischer Kolbenlinie (Versuch 1077).

Versuchsbeginn: 22. Januar 1934. Tag der Ablesung: 19. März 1934.

Versuchstemperatur:

Mittleres tägliches Maximum: 14,4°C. Mittleres tägliches Minimum: 10,9°C. Tagesmittel: 12,6°C.

	Absta	nmung	beobach- iilien			lten der milien	A he	Aufspaltung der heteroz. Familien					
Kreuzung	F <sub>1</sub> -Nr.	F <sub>2</sub> -Nr.	Gesamtzahl der beobs teten F <sub>3</sub> -Familien	homozygot normal	heterozygot	Dfür K=3(1:2Ver- m hältnis normal: heterozygot)	normal	nekro- tisch	D für K=4(3:1Ver- m hältnis normal: nekrotisch)				
normal × nekrotisch		974-4 a 974-6 a	18 42	5 17	13 25		97 226	37 66					
	Zus	ammen	60	22	38	0,45	323	103	0,42				

gegeben zu werden, da sich diese Nachkommenschaften ausnahmslos als homozygotisch-nekrotisch erwiesen.

Tabelle 12 zeigt fehlerkritisch gesicherte Übereinstimmung für monohybride Spaltung, auch in den Einzelnachkommenschaften, soweit sie sich als heterozygotisch erweisen. Von 60 in F<sub>2</sub> normalen Nachkommenschaften sind 22 Nachkommenschaften homozygotisch, während 38 heterozygotische Veranlagung besitzen. Das theoretische 2:1-Verhältnis wird also nahezu erreicht. Diese Befunde sichern weiter die Hypothese, daß die Nekrose ein rezessives Merkmal darstellt und durch ein Faktorenpaar vererbt wird.

Es erhebt sich aber gleichzeitig auf Grund unserer Versuchsergebnisse noch die Frage, ob wir neben dem Faktorenpaar Necenec nicht noch mit Modifikationsfaktoren (v.gl. Kappert, 28) rechnen müssen. Wenn wir nämlich die Ausdehnung und Intensität der Nekrosen der homozygotischen

580 W. Straib:

 $\rm F_3$ -Nachkommenschaften miteinander vergleichen, so ergeben sich nicht unerhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Nachkommenschaften. Diese bestehen auch, soweit bisher festgestellt werden konnte, im zeitlichen Auftreten der Nekrosen. Da die Differenzen in der  $\rm F_4$ -Generation teilweise wieder in derselben Weise auftraten, so können wir auf das Vorhandensein von Modifikationsfaktoren schließen. Die einwandfreie Beantwortung dieser Frage, die gleichzeitig noch eine weitere Frage aufwirft, ob nämlich nicht Serien multipler Allele für die graduellen Unterschiede der Blattnekrosen verantwortlich zu machen sind, gestaltet sich infolge der Labilität des Nekrosetypus zweifellos schwierig. Die bereits über den modifizierenden Einfluß von Außenbedingungen auf das Erscheinungsbild der Nekrose erhaltenen Anhaltspunkte sollten uns jedoch in die Lage versetzen, auch hier noch eine experimentelle Klärung herbeizuführen.

## IX. Diskussion der Ergebnisse.

Die hier erstmals beschriebenen erblichen Blattnekrosen des Weizens erscheinen genetisch von Interesse für die Analyse der Letalfaktoren und für die Frage des Anteils von Kern und Plasma an der Vererbung. Bei der erblichen Nekrose des Weizens halten sich die Plastiden und das Plasma keinesfalls unabhängig von ihren Erbfaktoren, wie uns bei Gramineen bereits verschiedene Fälle bekannt geworden sind (Christie, 4, Demerec, 8, Akerman, 1), sondern wir erhalten eine vollständig eindeutige Kernübertragung der Krankheit. Mit diesem Befund stellt sich die erbliche Nekrose des Weizenblattes in die Reihe der von verschiedenen Autoren (Lit. vgl. Müller, 37) untersuchten Fälle mendelnder Chlorophylldefekte, die fast ausnahmslos rezessiv sind und vielfach durch einen Faktor vererbt werden. Das genetische Studium der Krankheit wird uns dadurch erleichtert, daß die Allele für erbliche Nekrose in homozygotischem Zustand keine letale Wirkung besitzen und auch nicht subletal das Spaltungsverhältnis beeinflussen. Die Hemmung der allgemeinen Lebensfähigkeit der Pflanze ist, trotz der Schwere der Erkrankung des einzelnen Blattes, dadurch verhältnismäßig gering, daß sich ihr Auftreten nur auf die Blattspreiten beschränkt, Halm- und Blattscheidenassimilation also stets möglich bleibt, und daß das Auftreten der Nekrosen auf den Blättern sukzessiv erfolgt. Wir können damit die erbliche Nekrose den Grenzfällen vegetativer Subletalität zurechnen, für welche die von Correns (6) beobachtete Sordago der Mirabilis Jalapa als ein sehr eingehend untersuchtes Beispiel gelten darf.

Selten beobachten wir die Verbundenheit der Wirksamkeit innerer und äußerer Faktoren für das Manifestwerden pflanzlicher Subletalität eindeutiger als bei der erblichen Nekrose des Weizenblattes, sodaß im ersten Augenblick der Zweifel berechtigt erscheinen muß, ob für die Krankheit ein Gen verantwortlich ist, oder ob es sich nur, wie Correns (6) auch bei der Sordago zur Diskussion stellt, "um die Vererbung einer scharf ausgesprochenen Disposition zur Erwerbung der Krankheit handelt". Wir können diese Annahme mit den gleichen Argumenten widerlegen wie Correns (6) und seiner (a. a. O. S. 611/12) gegebenen Beweisführung in allen Stücken auch bei der erblichen Nekrose folgen. Die experimentellen Unterlagen dazu geben uns die auf S. 579 bereits vorgebrachten Daten. Die Veränderungen im Phänotypus der Nekrose durch äußere Faktoren, wie Temperatur, Licht, Mineralsalzernährung, Kohlensäure sind uns ebenso gut verständlich wie etwa die Modifizierbarkeit der Blütenfarbe (vgl. Schröder, 46) oder der Gelbrostreaktion (Straib, 49).

Bezüglich des Temperatureinflusses ergeben sich analoge Gesetzmäßigkeiten, wie sie für das Auftreten erblicher und nicht erblicher Chlorophylldefekte durch verschiedene Autoren festgestellt sind (Correns, 7, Gaßner, 15, Collins, 5, Dickson und Holbert, 9, Fischbach, 13, Frankel, 14, Molisch, 35, Neatby, 38, Schwarz, 47), d. h. die Entwicklung der Chloroplastendegeneration wird durch tiefe Temperaturen gefördert. Nicht sämtliche Typen von erblichen Nekrosen reagieren jedoch in dieser Weise. Vielmehr sind umgekehrt auch Fälle im Laufe der Untersuchungen bekannt geworden, in denen höhere Temperaturen die Degeneration der Chloroplasten beschleunigen. In der Steigerung der Intensität der Nekrosen durch günstige Belichtung decken sich unsere Beobachtungen mit denjenigen anderer Autoren (Åkerman, 1—2, Emerson, 10). Dies gilt sowohl für Kultur der Pflanzen bei niedrigen wie auch bei höheren Temperaturgraden.

Über die Bedeutung der Mineralsalz- und Kohlensäureernährung für die Entwicklung von Chlorophylldefekten finden wir bisher in erster Linie Angaben bezüglich der Dörrfleckenkrankheit des Hafers (Hiltner, 26; daselbst auch weitere Literaturhinweise). Aus den Ergebnissen unserer eigenen Untersuchungen dürfen wir schließen, daß zwischen erblicher Nekrose und Dörrfleckenkrankheiten in dieser Hinsicht kaum Beziehungen bestehen. Die einzige positive Korrelation scheint in der Kalkwirkung zu liegen; auch erbliche Nekrosen werden durch frische Kalkung des Bodens gefördert.

Unsere Beobachtungen über den Einfluß von Außenfaktoren auf die durch innere Ursachen bewirkten Blatterkrankungen (Nekrosen) des Weizens sind von Bedeutung für die Differenzierung der auf den verschiedenen Weizenvarietäten voneinander abweichenden Flecken- und Nekrosetypen. Es hat den Anschein, als müßten wir zwischen Blattnekrosen unterscheiden, die leicht durch äußere Einflüsse modifiziert werden, und solchen, deren Phänotypus stabiler ist. Dies gilt sowohl für die Varietäten innerhalb des Genus Triticum, wie auch für die auf anderen Gramineen festgestellten erblichen Blattflecken. So berichtet

582 W. Straib:

Christensen (3) über stark modifizierbare Fleckentypen je nach Gerstensorte und Außenfaktoren, während aus den Untersuchungen von Emerson (10) über "blotch leaf" des Maises nur eine Beeinflussung durch verschiedenen Lichtgenuß ersichtlich ist, und andererseits von Ferdinandsen und Winge (12) keine Angaben über eine Variabilität vorliegen, so daß wir annehmen müssen, daß hier die Fleckigkeit ziemlich gleichbleibend ist. Auch Correns (6) weist ausdrücklich auf die Beständigkeit der Sordago unter den verschiedenen Außenbedingungen hin.

Von Interesse sind auch die Ergebnisse einiger chemischer Analysen erblich nekrotischer Weizenblätter, die von Hilpert und Heidrich (25) durchgeführt wurden. Danach wäre erbliche Nekrose von der durch Pilzinfektion (Puccinia glumarum) verursachten Nekrose deutlich in der chemischen Zusammensetzung des Weizenblattes differenziert. In dieser Hinsicht könnten uns die von v. Euler und Mitarbeitern (11) in letzter Zeit eingeleiteten biochemischen Untersuchungen mit dem Albina-Xantha-Typus Nilsson-Ehles (39) bei Gerste ebenso wie die physiologisch-pathologische Methode, wie sie von Schmidt (45) an albicaten und mosaikkranken Zuckerrübenblättern zur Anwendung kam, auch über die Ursache der Entstehung erblicher Blattnekrosen des Weizens noch weitere Aufschlüsse geben. Eine derart gerichtete Untersuchung wäre nach Küster (31, S. 380/81) eine dringend zu lösende Aufgabe!

Für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung würden die beschriebenen Blattnekrosen von geringerer Bedeutung sein, wenn es stets möglich wäre, nekrotische Linien im Freiland mit Sicherheit zu erkennen und zu eliminieren. Dies ist jedoch bei der starken Modifizierbarkeit des Nekroseauftretens durch äußere Einflüsse nicht immer durchführbar. Noch komplizierter gestalteten sich die Fälle, wenn, wie Christensen (3) bei dem "leaf spot" der Gerste gezeigt hat, Flecken- und Nekrosebildung in den verschiedenen Entwicklungsstadien der einzelnen Sorten verschieden auftreten sollte. Wir müssen auch bei Weizen damit rechnen, daß es Sorten gibt, die erbliche Blattnekrose nur im geschoßten Stadium zeigen. Ihre sichere Beurteilung ist, wie unsere Beobachtungen ergeben haben, im Felde außerordentlich schwierig. Nach den Ertragsausfällen, die bei nekrotischen Linien von Kolbenweizen eingetreten sind, verdienen sie die volle Aufmerksamkeit des Züchters.

## X. Zusammenfassung.

1. Es werden nichtparasitäre Flecken und Nekrosen der Blattspreiten des Weizens beschrieben, die durch innere Faktoren bedingt sind. Die Blatterkrankungen wurden bisher vereinzelt auf Varietäten von Triticum vulgare, Triticum compactum, Triticum durum und Triticum polonicum beobachtet. Während sich die Ne-

krosetypen der durum- und polonicum-Weizen teilweise sehr ähnlich sind, ergeben sich für Triticum vulgare abweichende Krankheitssymptome. Hier ist die Fleckenbildung stark sortentypisch.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung sind hauptsächlich mit nekrotischen Linien gewonnen, die aus einem zu Triticum vulgare gehörenden Kolbenweizen ausgelesen wurden. Vermutlich handelt es sich dabei um eine Genmutation, deren Zeitpunkt nicht mehr bestimmt werden kann.

- 2. Die Nekrosen treten in sämtlichen Entwicklungsstadien der Weizenpflanze auf. Im vorgeschrittenen Krankheitsstadium wird das Gewebe der Blattspreiten vollständig nekrotisiert, und die Blätter sterben entsprechend ihrem Entwicklungsalter der Reihe nach ab. Trotzdem bleibt die Pflanze lebensfähig, weil jedes neu gebildete Blatt zunächst etwa 14 Tage bis drei Wochen lang je nach den Außenbedingungen funktionsfähig erscheint. Außerdem werden die Blattscheiden und Halmteile nicht nekrotisch, können also assimilieren.
- 3. Die Nekrose beginnt mit einer Degeneration der Chloroplasten; sie wird zuerst an den den Sklerenchymsträngen anliegenden Zellen sichtbar und ergreift nach und nach das ganze Mesophyll. Durch gleichzeitig durchgeführte chemische Untersuchungen von Hilpert und Heidrich wird gezeigt, daß der Stickstoffgehalt von normal aussehenden, aber nekrotisch veranlagten Linien relativ niedrig ist, während in den vergilbten Teilen etwa der Stickstoffgehalt normaler Vergilbung im Endwert erreicht wird. Der Chlorophyllschwund ist bei erblicher Nekrose stärker als bei Rostnekrose. Die Degeneration des Chlorophylls setzt bereits zu einem Zeitpunkt ein, zu dem wir der Pflanze ihre nekrotische Veranlagung noch nicht ansehen können.
- 4. Einen starken Einfluß auf die Entwicklung der Nekrosen übt die Temperatur aus. Dauertemperaturen von über 15°C verhindern das Zustandekommen der Nekrose bei Triticum vulgare, während sie bei den Varietäten anderer Weizenspezies auch noch bei höheren Temperaturen sichtbar werden. Günstige Belichtung fördert die Nekrotisierung. Überernährung mit Stickstoffsalzen unterdrückt das Auftreten der Nekrosen und beschränkt ihren Umfang in starkem Maße, vollständiger Kalimangel wirkt in gleicher Richtung und hebt die Nekrosebildung auf. Die Phosphorsäurewirkung ist weniger deutlich; bei Phosphorsäuremangel treten etwas schwächere Nekrosen auf. Durch Mangan-, Magnesium-, Kupfer- und Borsalze konnte keine Beeinflussung der Nekrose bewirkt werden. Das Kohlensäure-Optimum für die Nekrose liegt bei 0,3% T. A.-Konzentra-

- tion. Geringere CO<sub>2</sub>-Konzentrationen vermindern das Auftreten der Nekrosen, ebenso höhere Kohlensäure-Konzentrationen. Bei 4,5 °/<sub>0</sub> CO<sub>2</sub> T. A.-Konzentration wird die Nekrose nicht mehr sichtbar, jedoch nur für die Dauer der Einwirkungszeit. Diese physiologischen Daten lassen erkennen, daß zwischen erblicher Nekrose und dem Dörrfleckentypus scheinbar keine Beziehung besteht, obwohl sich die Krankheitsbilder ähneln.
- 5. Das Ergebnis der Rostinfektion kann durch das Auftreten erblicher Nekrosen in verschiedener Hinsicht beeinflußt werden. Die einwandfreie Beurteilung der Anfälligkeit von Weizensorten und stämmen, welche die Anlage zur Nekrose besitzen, gestaltet sich schwierig, besonders im Hinblick darauf, daß die optimalen Temperaturen für die Gelbrostinfektion und Nekrosebildung bei Triticum vulgare zusammenfallen oder sich überschneiden.
- 6. Die Vererbung der Nekrose folgt bei den Kolbenlinien den Mendel'schen Gesetzen. Durch Prüfung
  der F<sub>1</sub>- bis F<sub>1</sub>-Generation wurde gezeigt, daß die
  Nekrose ein einfach mendelndes rezessives Merkmal darstellt und durch ein Kerngen vererbt wird.
  Gleichzeitig lassen die Ergebnisse erkennen, daß
  neben dem Faktorenpaar Nec nec noch Modifikationsfaktoren wirksam sind.
- 7. Der Ausfall im Kornertrag durch erbliche Nekrose schwankte bei Kolbenweizen zwischen 7 und 21%. Er ist hervorgerufen durch schwächere Bestockung und niedrigeres Tausendkorngewicht der nekrotischen Linie. Die Verluste richten sich nach den klimatischen Bedingungen, den Ernährungsverhältnissen des Bodens und können an anderen Stellen größer oder auch geringer sein. Es wäre deshalb von Bedeutung, die Frage zu prüfen, ob es beim Weizen noch andere Arten erblicher Nekrosen gibt, deren Auftreten in erster Linie an die Blätter geschoßter Pflanzen gebunden ist. Die bisherigen Beobachtungen sprechen in diesem Sinner

#### XI. Zitierte Literatur.

- 1 Åkerman, Å.: Untersuchungen über eine in direktem Sonnenlicht nicht lebensfähige Sippe von Avena sativa. Hereditas, 3, 1922, 147-177.
- 2 Åkerman, Å.; Untersuchungen über die Vererbung gelb- und weißgestreifter Blattfarbe beim Hafer. Bot. Notiser 1933, Lund 1933, 255-270.
- 3 Christensen, J. J.: Nonparasitic leaf spots of barley. Phytopathology, 24. 1934, 726-742.
- 4 Christie, W.: Die Vererbung gelbgestreifter Blattfarbe beim Hafer. Zeitschrift für ind. Abstammungs- und Vererbungslehre, 27, 1921, 134-141.

- 5 Collins, C.: A low temperature type of albinism in barley. Journ. Hered, 18, 1927, 331—334.
- 6 Correns, C.: Über eine nach den Mendelschen Gesetzen vererbte Blattkrankheit (Sordago) der *Mirabilis Jalapa*. Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik, **56**, 1915, 585-616 (Pfeffer-Festschrift).
- 7 Correns, C: Pathologie und Vererbung bei Pflanzen und einige Schlüsse daraus für die vergleichende Pathologie. Gesammelte Abhandlungen zur Vererbungswissenschaft aus periodischen Schriften. 1899—1924. Berlin 1924. 1060—1074.
- 8 Demerec, M.: Inheritance of white seedlings in maize. Genetics, 8, 1923, 561-593.
- 9 Dickson, J. G. and Holbert, S. R.: The relation of temperature to the development of disease in plants. Am. Naturalist, 62, 1928, 311-333.
- 10 Emerson, R. A.: The inheritance of blotch leaf in maize. Cornell University Agric. Exp. Stat., Memoir 70, 1923, 1—16.
- 11 Euler, H. v., Forssberg, A., Runehjelm, D., Hellström, H.: Zur chemischen Charakterisierung von erblichen Chlorophylldefekten. Zeitschrift für ind. Abstammungs- und Vererbungslehre, 59, 1931, 131-152.
- 12 Ferdinandsen, C. and Winge, Ö.: A heritable blotch leaf in oats. Hereditas, 13, 1929 30, 164-176.
- 13 Fischbach, C.: Untersuchungen an den beiden heterostylen Leinarten Linum hirsutum und Linum viscosum und ihren Bastarden. Zeitschrift für ind. Abstammungs- und Vererbungslehre, 65, 1933, 180-242.
- 14 Frankel, O. H.: A case of mass-occurrence of non inherited chlorophyll defects in wheat. Trans. of the New Zealand Inst., 63, 1933, 142-143.
- 15 Gaßner, G.: Über einen Fall von Weißblättrigkeit durch Kältewirkung. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 33, 1915, 478-486.
- 16 Gaßner, G. und Goeze, G.: Die Bedeutung des Kalium-Stickstoffverhältnisses im Boden für Assimilation, Chlorophyllgehalt und Transpiration junger Getreidepflanzen. Zeitschrift für Pflanzenernährung, Teil A, 36, 1934, 61-85.
- 17 Gaßner, G. und Goeze, G.: Assimilationsverhalten, Chlorophyllgehalt und Transpirationsgröße von Getreideblättern mit besonderer Berücksichtigung der Kaliumund Stickstoffernährung. Zeitschrift für Botanik, 23, 1934, 257—340.
- 18 Gaßner, G. und Hassebrauk, K.: Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Mineralsalzernährung und Verhalten der Getreidepflanzen gegen Rost. Phytopath. Zeitschrift, 3, 1931, 535—617.
- 19 Gaßner, G. und Hassebrauk, K.: Zweijährige Feldversuche über den Einfluß der Düngung auf die Rostanfälligkeit von Getreidepflanzen. Phytopath. Zeitschrift, 7, 1934, 53-61.
- 20 Gaßner, G, und Kirchhoff, H.: Einige Versuche zum Nachweis biologischer Rassen innerhalb des Roggenbraunrostes, *Puccinia dispersa* Erikss. u. Henn. Phytopath. Zeitschrift, 7, 1934, 479—486.
- 21 Gaßner, G. und Straib, W.: Untersuchungen über die Abhängigkeit des Infektionsverhaltens der Getreiderostpilze vom Kohlensäuregehalt der Luft. Phytopath. Zeitschrift, 1, 1929, 1—30.
- 22 Gaßner, G. und Straib, W.: Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten der Weizensorten gegen Puccinia glumarum. Phytopath. Zeitschrift, 1, 1929, 215—275.
- 23 Gaßner, G. und Straib, W.: Die Bestimmung der biologischen Rassen des Weizengelbrostes. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt, 20, 1932, 141—163.
- 24 Gaßner, G. und Straib, W.: Experimentelle Untersuchungen zur Epidemiologie des Gelbrostes (*Puccinia glumarum* [Schm.] Erikss. und Henn.). Phytopath. Zeitschrift, 7, 1934, 285—302.

- 25 Hilpert, R. S. und Heidrich, K.: Über Beziehungen zwischen Stickstoff- und Chlorophyllgehalt bei natürlicher und krankhafter Vergilbung der Blätter. Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, 67, 1934, 1077—1081.
- 26 Hiltner, E.: Die Dörrfleckenkrankheit des Hafers und ihre Heilung durch Mangan. Das Kohlensäure-Mineralstoffgesetz, ein Beitrag zur Physiologie nichtparasitärer Krankheiten. Landw. Jahrbücher, 60, 1924, 689—769.
- 27 Jessen, W.: Die Marmorierung der Blätter der Getreidearten, eine Magnesiummangelerscheinung. Zeitschrift für Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde. A. Wiss. Teil, 22, 1931, 129-135.
- 28 Kappert, H.: Grundriß der gärtnerischen Pflanzenzüchtung. Berlin 1934.
- 28 a Mc Kinney, H. H.: A mosaic disease in winter wheat and winter rye. U. S. Dept. of Agric., Department Bulletin Nr. 1361, 1925,1—10.
- 28 b Mc Kinney, H. H.: A mosaic of wheat transmissible to all cereal species in the tribe Hordeae. Journal of Agric. Research, 40, 1930, 547-556.
- 29 Klinkowski, M.: Beiträge zur Kenntnis und Diagnostik nichtparasitärer Krankheitsformen der Kulturpflanzen unter besonderer Berücksichtigung der Kalimangelschäden. Die Ernährung der Pflanze, 31, 1935, 21-29.
- 30 Köhler, E.: Viruskrankheiten. In: Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. I, 2. Teil, 1934, 329-511 (herausgegeben von O. Appel).
- 31 Küster, E.: Pathologische Pflanzenanatomie, 3. Auflage, Jena 1925.
- 32 Link, G. K. K.: The rôle of genetics in etiological pathology. The Quarterly Review of Biology, 7, 2, 1932, 127-171.
- 33 Merkenschlager, F.: Pflanzenernührung und Pflanzenkrankheiten. In: Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. I, Teil 2, 1933, 199-317 (herausgegeben von O. Appel).
- 34 Mitscherlich, E. A.: Die Bestimmung des Kalivorrates nach Mitscherlich. Die Ernährung der Pflanze, 30, 1934, 181-183.
- 35 Molisch, H.: Die Verwertung des Abnormen und Krankhaften in der Pflanzenkultur. Gartenbauwissenschaft, 1, 1929, 3-9.
- 36 Morstatt, H.: Allgemeine Pflanzenpathologie. In: Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. I, 1. Teil, 1933, 80-198 (herausgegeben von O. Appel).
- 37 Müller, K. O.: Durch innere Faktoren hervorgerufene Pflanzenkrankheiten. In: Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. I. Teil 2, 1934, 1-79 (herausgegeben von O. Appel).
- 38 Neatby, K. W.: A chlorophyll mutation in wheat. Journ. of Heredity (Wash.), 24, 1933, 159-162.
- 39 Nilsson-Ehle, H.: Einige Beobachtungen über erbliche Variationen der Chlorophylleigenschaft bei den Getreidearten. Zeitschrift für ind. Abstammungs- und Vererbungslehre, 9, 1913, 289.
- 40 Noack, K. L.: Über Hypericum-Kreuzungen. III. Rassen- und Artkreuzungen mit einem buntblättrigen Hypericum acutum. Zeitschrift für ind. Abstammungs- und Vererbungslehre, 63, 1932, 232—255.
- 41 Oehlkers, F.: Erblichkeitsforschung an Pflanzen. Wissenschaftliche Forschungsberichte, Naturwissenschaftliche Reihe, Bd. XVIII, 1927, Dresden. Verlag Th. Steinkopf.
- 42 Rademacher, B.: Genetisch bedingte Unterschiede in der Neigung zu physiologischen Störungen beim Hafer (Flissigkeit, Dörrfleckenkrankheit, Urbarmachungskrankheit, Blattröte). Zeitschrift für Züchtung, Reihe A, Pflanzenzüchtung, 20 1935, 210-250.
- 43 Riehm: Über nichtparasitäre Haferkrankheiten. Deutsche Landw. Presse, Jahrgang 1917, Nr. 8, 62.

- 44 Rudorf, W. und Job, M.: Untersuchungen bezüglich der Spezialisierung von *Puccinia graminis tritici* und *Puccinia glumarum tritici*, sowie über Resistenz und ihre Vererbung in verschiedenen Kreuzungen. Zeitschrift für Züchtung, Reihe A, Pflanzenzüchtung, 19, 1934, 333—365.
- 45 Schmidt, E. W.: Zur pathologischen Physiologie albicater und mosaikkranker Zuckerrübenblätter. Phytopath. Zeitschrift, 8, 1935, 363—368.
- 46 Schröder, H.: Untersuchungen über die Beeinflussung des Blütenfarbmusters von Petunia hybrida grandistora hort. Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik, 79, 1934, 714-752.
- 47 Schwarz, W.: Über die Ursachen und das Zustandekommen der Panaschierung bei einer Form der Selaginella Martensii Spring. fol. var. Protoplasma, 10, 1930, 427—451.
- 48 Straib, W.: Über Gelbrostanfälligkeit und -resistenz in den verschiedenen *Triticum*-Reihen. Zeitschrift für Züchtung, Reihe A, 18, 1933, 223-240.
- 49 Straib, W.: Untersuchungen zur Genetik der Gelbrostresistenz des Weizens. Phytopath. Zeitschrift, 7, 1934, 427—477.
- 50 Straib, W.: Auftreten und Verbreitung biologischer Rassen des Gelbrostes (Puccinia glumarum [Schm.] Erikss. et Henn.) im Jahre 1934. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt, 21, 1935, 455-466.
- 51 Webb, R. W.: Soil factors influencing the development of the mosaic disease in winter wheat. Journal of Agric. Research, 35, 1927, 587-614.
- 52 Webb, R. W.: Further studies on the soil relationships of the mosaic disease of winter wheat. Journal of Agric. Research, 36, 1928, 53-75.

# Untersuchungen über die Phytophthorakrankheit (Phytophthora infestans) der Tomate.

Unter besonderer Berücksichtigung der biologischen Spezialisation des Erregers.

Von

#### Kurt Röder.

(Aus der Biologischen Reichsanstalt, Dienststelle für Pflanzenzüchtung und angewandte Vererbungslehre.)

Mit 9 Textabbildungen.

In halt: Einleitung. — Der äußere Krankheitsverlauf. — Der innere Krankheitsverlauf:
a) beim Laub; b) bei den Früchten. — Vergleichende Untersuchungen über die Virulenz verschiedener Phytophthora-Isolierungen: a) Das Verhalten auf 81 deutschen und amerikanischen Tomatensorten; b) Das Verhalten auf den Kartoffeltestsorten; c) Das Verhalten auf anderen Solanaceen; d) Das Verhalten weiterer 61 Phytophthora-Isolierungen von Kartoffeln auf dem Tomatenlaub. — Bemerkungen zur Morphologie der drei Phytophthorabiotypen. — Die Entstehung und geographische Verbreitung des "T"-Biotypen. — Die Aussichten für die praktische Züchtung. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

## Einleitung.

Bekanntlich wird auch die Tomate von dem Krautfäuleerreger der Kartoffel, Phytophthora infestans, befallen. Diese Tatsache ist schon seit langer Zeit bekannt; denn schon bald nachdem man den Parasiten bei der Kartoffel entdeckt hatte, berichtete Payen im Jahre 1847 in den "Comptes rendus hebdomad. des séances de l'Academie des sciences" über den Befall von Tomatenfrüchten mit Botrytis infestans — Phytophthora infestans. Mit dieser Mitteilung hatte es aber zunächst sein Bewenden. In der Folgezeit wird kaum noch etwas über das Auftreten des Pilzes bei der Tomate berichtet (2). Erst mit dem Beginn des Großanbaues der Tomate als Gemüse gegen Ende des 19. Jahrhunderts häufen sich in der Literatur die Angaben, die sich zunächst darauf beschränken, das Auftreten des Parasiten bei dieser Kulturpflanze zu melden.

Da in Amerika früher als in Mitteleuropa die Kultur der Tomate im großen aufgenommen wurde, ist es nicht verwunderlich, daß die ersten genaueren Angaben über den Umfang der Schadwirkungen und die in Frage kommenden Bekämpfungsmaßnahmen von amerikanischen Forschern stammen (18, 28, 42, 54). Ebenso wie für die Kartoffel wird auch für die Tomate eine direkte Bekämpfung des Parasiten mit Kupferkalkbrühe empfohlen (21, 48). Außerdem wurde aber schon vorgeschlagen, die Schäden durch Anbau widerstandsfähiger Sorten herabzudrücken.

Über die Resistenz oder Anfälligkeit der Tomatensorten gehen allerdings die Ansichten in der Praxis häufig auseinander (5, 8, 43, 44, 49). So bezeichnet Reinhold die Sorten "Ailsa Craig", "Pilot" und "Westlandia" als widerstandsfähig, während Böhmig sie als stark anfällige Sorten herausstellt. Umgekehrt verhält es sich mit der Sorte "Bonner Beste". Nach Böhmig soll diese Sorte nur geringe Ernteausfälle durch den *Phytophthora*-Befall erleiden, nach Reinhold dagegen sehr anfällig sein.

Die Widersprüche in den Angaben der verschiedenen Autoren können verschiedene Gründe haben. Einmal soll nach Schaffnit und Volk (45, 46) das Verhalten der Wirtspflanze gegenüber den Parasiten weitgehend von den Ernährungsverhältnissen beeinflußt werden, wobei noch andere Faktoren, z. B. Witterungseinflüsse, hineinspielen können, die das Verhalten der Pflanzen gegenüber dem Parasiten modifizieren. Daher ist es möglich, daß die Autoren nur deshalb zu einander widersprechenden Auffassungen gelangt sind, weil sie ihre Beobachtungen an Pflanzen sammelten, die unter ungleichartigen Umweltbedingungen zur Entwicklung gelangt waren. Zum anderen könnten aber auch die Widersprüche darin begründet liegen, daß bei der Tomate ebenso wie bei der Kartoffel verschiedene "biologisch spezialisierte" Rassen des Pilzes auftreten. Diese Annahme ist nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen, zumal wir heute dank den Untersuchungen von Müller und Schick wissen, daß bei der Kartoffel verschiedene biologische Rassen des Parasiten vertreten sein können und die Untersuchungsergebnisse einiger amerikanischer Forscher in die gleiche Richtung deuten. Melhus (28) wies schon im Jahre 1916 auf Grund morphologischer Unterschiede, die er bei Stämmen verschiedener Herkunft beobachtet hatte, auf diese Möglichkeit hin. Zudem hatten Giddings (14) und Berg (4, 14) bei Phytophthora-Stämmen, die von Kartoffeln und Tomaten isoliert worden waren, Virulenzunterschiede festgestellt, die sie veranlaßten, die Auffassung zu vertreten, daß bei der Phytophthora infestans eine biologische Spezialisierung vorhanden sei.

Die Ansichten der zuletzt genannten Autoren sind allerdings nicht unwidersprochen geblieben. Reddick und Crosier isolierten ebenfalls *Phytophthora*-Stämme von Kartoffeln und Tomaten, stellten aber bei ihren Versuchen fest, daß die höhere Virulenz der von Tomaten isolierten Stämme nach einiger Zeit nachließ. Zuletzt gingen die Kulturen ein. Hieraus schlossen sie, daß es sich nur um zeitlich begrenzte Virulenzunterschiede handele, die nicht zur Annahme verschiedener biologischer Rassen bei der *Phytophthora infestans* berechtigen.

Aus den Angaben der verschiedenen Autoren läßt sich kein klares Bild über das Verhalten des Parasiten gegenüber der Tomate gewinnen. Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit sollte es deshalb sein:

1. die Angaben der amerikanischen Autoren nachzuprüfen,

2. zu untersuchen, ob gegebenenfalls die Widersprüche in den Angaben, die in der Literatur bezüglich der Resistenzfrage zu finden sind, auf die Existenz verschiedener *Phytophthora infestans*-Biotypen zurückzuführen sind.

Da sich im Laufe der Arbeit herausstellte, daß die einzelnen Organe der Tomatenpflanze verschieden auf den Angriff des Parasiten reagieren, stellte sich die Notwendigkeit heraus,

3. den inneren Verlauf der Krankheit eingehender zu untersuchen, als es bisher geschehen ist.

Bei der Durchführung dieser Untersuchungen bediente ich mich der Stammkulturen des Pilzes und der Tomatensorten, die mir an der Biologischen Reichsanstalt von Herrn Professor Dr. K. O. Müller freundlicherweise zur Verfügung gestellt wurden. Vervollständigt wurde das Sortiment durch 30 Tomatensorten, die mir Herr Dr. Reinhold zusandte<sup>1</sup>). Weiterhin wurden zu den Versuchen einige Kulturkartoffelsorten herangezogen, einige der Kartoffel-W-Rassen (siehe Müller, 31, 32) und einige andere Solanaceen. Außerdem isolierte ich einige Stämme des Pilzes von Tomaten, die aus der Umgebung Berlins und aus Bremen stammten<sup>2</sup>).

### Der äußere Krankheitsverlauf.

Erfahrungsgemäß erscheint der Pilz hauptsächlich in den Monaten Juli bis September. Die unteren Blätter werden in der Regel zuerst befallen. Der Parasit macht sich zunächst auf der Unterseite der Blätter durch einen weißlichen, feinen, hauptsächlich aus Sporangienträgern bestehenden Pilzrasen bemerkbar; gewöhnlich ist dieser bei der Tomate nicht so stark entwickelt wie bei der Kartoffel. Ein bis zwei Tage nach dem Erscheinen des Pilzes bräunt sich das von dem Parasiten besiedelte Blattgewebe. Ist die Luftfeuchtigkeit relativ hoch, so entwickelt sich eine Naßfäule; ist sie niedrig, so entstehen nur "Trockenflecken". Die Fruktifikation des Parasiten ist dann gering. Unter solchen Umständen ist es häufig schwierig, den Erreger ohne Anwendung des Feuchtkammerverfahrens festzustellen.

An jungen Gewächshauspflanzen, die künstlich mit einer Zoosporenaufschwemmung infiziert worden sind, nimmt die Krankheit folgenden Verlauf:

Schon nach etwa 24 Stunden zeigen sich bei optimaler Temperatur und Luftfeuchtigkeit die ersten Symptome. Auf der Unterseite der Blätter entstehen schwach erkennbare, dunkelgrüne Flecken, die sich schnell

<sup>1)</sup> Für die liebenswürdige Unterstützung meiner Versuche bin ich Herrn Dr. Reinhold zu besonderem Dank verpflichtet.

<sup>2)</sup> Herrn Dr. Farenholtz spreche ich an dieser Stelle für die freundliche Zusendung befallener Tomatenfrüchte meinen besten Dank aus.

ausbreiten. Infolge der starken Infiltration der Interzellularen mit dem austretenden Zellsaft erscheint das Blatt an den befallenen Stellen durchsichtiger als an den gesunden Stellen ("Ölflecken"). Am vierten oder fünften, spätestens am sechsten Tage erscheint der Sporangienträgerrasen, und zwar in relativ starker Entwicklung nur auf der Unterseite der Blätter. Die Inkubationszeit beim Tomatenlaub bewegt sich demnach in denselben Grenzen, wie es von Melhus, Vowinckel u. a. beim Kartoffelkraut festgestellt worden ist.

Der Parasit befällt sowohl Blätter als auch Stengel, entgegen den Mitteilungen von Volk (51), dem es nur gelang, narkotisierte oder dunkel gestellte Tomatenpflanzen zu infizieren (Näheres hierüber siehe später).

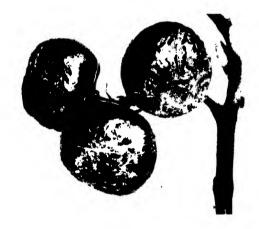


Abb. I.

Im Freiland befallene Tomatenfrüchte.

Der weiße Belag wird durch den Sporangienträgerrasen gebildet.

Junge Tomatenpflanzen, bei denen der Parasit in den Stengel gelangt, sind nach etwa zwölf Tagen durch die Krankheit vernichtet.

Außer den Naßfäuleflecken treten auf den Blättern auch häufig Trockenflecken auf, die sich gegen das gesunde Gewebe scharf absetzen und nach kurzer Zeit eine braune Farbe annehmen. Eine nennenswerte Ausbreitung dieser Flecken kommt nicht mehr zustande, wenn einmal dieser Zustand erreicht ist.

Die Erkrankung der Früchte nimmt, wie bereits Reed, Melhus und Milbrath beobachtet haben, fast ausschließlich vom Stielansatz her ihren Anfang. Zuerst zeigen sich unter der Epidermis kleine, anfangs hellbraune Flecken, die sich langsam vergrößern und allmählich eine dunkelbraune Färbung annehmen. Bei geringerer Luftfeuchtigkeit sinken die befallenen Gewebeteile infolge ihres relativ hohen Transpirationsverlustes

mehr oder weniger stark ein. Nach einiger Zeit ist die ganze Frucht mit dem Erreger durchsetzt. Auch bei großer Trockenheit vermag der Parasit im Fruchtfleisch ungehemmt weiter zu wachsen, im Gegensatz zu den Blättern, bei denen die Krankheit unter diesen Umständen zum Stillstand kommt.

Bei genügender Luftfeuchtigkeit gelangt der Parasit auch auf den Früchten zur Fruktifikation. Die Epidermis wird teilweise oder vollkommen von einem sehr feinen, büscheligen, weißen Rasen überzogen, der aus den Sporangienträgern und Sporangien des Pilzes besteht. Befinden sich Verletzungen, z. B. Risse, an der befallenen Frucht, so ist an diesen Stellen die Entwicklung des Pilzrasens besonders üppig (s. Abb. 1).

### Der innere Krankheitsverlauf beim Laub.

Im Schwamm- und Palisadenparenchym befallener Blätter breitet sich das Mycel unter Benutzung der Interzellularen, seltener unter Spaltung



Abb. 2. Abb. 3.

Ausgekeimte, in Epidermiszellen eines Tomatenblattes eingedrungene Zoosporen
5 Stunden nach der Infektion.

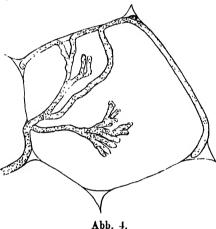
In Abb. 2 ist die Hyphe bereits in das Interzellularsystem eingedrungen. Vergr.: etwa 750 fach.

der Zellwände, aus, wobei es die Verbindung mit dem Wirtszellplasma mit Hilfe von feinen Haustorien herstellt. Bei genügender Luftfeuchtigkeit sprossen die Hyphen aus den Spaltöffnungen als Sporangienträgeranlagen heraus. Da auf der Unterseite der Blätter die Zahl der Spaltöffnungen sehr viel größer ist als auf der Oberseite<sup>1</sup>), ist die Bildung der Sporangienträger hier auch reichlicher als auf der Blattoberseite.

Um festzustellen, wie der Parasit in das Innere der Pflanze gelangt, wurden Blätter mit Tropfen einer Zoosporenaufschwemmung versehen und in feuchte Kammern gelegt. Bei einer Temperatur von 19 bis 20°C konnten häufig noch drei Stunden nach dem Aufbringen der Aufschwemmung schwärmende Zoosporen festgestellt werden. Sobald die Schwärmsporen ihre Bewegungsfähigkeit verloren haben, runden sie sich ab und keimen nach kurzer Zeit aus. Die Keimschläuche dringen in das Blatt-

<sup>1)</sup> Nach Mayer-Alberti schwankt die Anzahl der Spaltöffnungen je Flächeneinheit (0,0907 qmm): für die Blattoberseite von 0 bis 0,2, für die Blattunterseite von 16 bis 26.

innere entweder durch die Spaltöffnungen ein, oder, wie weit häufiger festgestellt werden konnte, sie durchbohren die äußeren Zellwände der Epidermiszellen. Vor dem Durchbohren der Kutikula schwillt der Keimschlauch an, verschmälert sich jedoch zu einem ganz feinen Hyphenstrang, wenn er durch die äußere Zellwand der Epidermis in das Innere der Zelle eindringt. Der Inhalt der Zoospore wandert hierbei in den Keimschlauch. In die Wirtszelle gelangt, verdickt sich die Hyphe wiederum. Nach kurzer Zeit koaguliert das Plasma der infizierten Zelle. Diese befindet sich in diesem Zustand offenbar nicht mehr am Leben. Häufig verzweigt sich das eingedrungene Mycel noch innerhalb der Epidermiszelle. Kurz darauf durchbohrt es die innere Zellwand und wächst dann interzellulär weiter (siehe Abb. 2 und 3).



Interzelluläre Ausbreitung des Mycels im Tomatenfruchtfleisch.

Vergr.: etwa 500 fach.

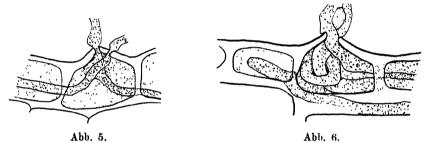
Die vorliegenden Befunde über das Verhalten des Parasiten beim Tomatenlaub stimmen demnach weitgehend mit den Untersuchungsergebnissen von De Bary, Hecke und anderen Autoren beim Kartoffelkraut überein.

#### Der innere Krankheitsverlauf bei den Früchten.

Das Mycel des Parasiten findet man in den befallenen Gewebepartien des Fruchtfleisches in großen Mengen. Die Hyphen wachsen auch hier normal interzellulär. Die üppigste Ausbreitung zeigt der Pilz im parenchymatischen Gewebe. Häufig liegen in den Interzellularen mehrere Pilzhyphen nebeneinander. Zwängen sich die Hyphen zwischen die Zellwände, so zeigen sie hier oft eine handförmige Verzweigung (siehe Abb. 4). Ebenso wie in dem Tomatenblatt konnten auch im Fruchtfleisch Haustorien häufig gefunden werden.

Wenn das Mycel das Hypoderm von innen durchwuchert hat und die Luftfeuchtigkeit hoch genug ist, durchbrechen die Hyphen die Epidermis zur Bildung der Sporangienträger. Man erhält hierbei (siehe Abb. 5 und 6) den Eindruck, als ob sie rein mechanisch die Außenwand der Epidermis sprengen und so ins Freie gelangen.

Um zu ermitteln, wie der Parasit in das Innere der Frucht gelangt, und um gleichzeitig die Angaben einiger amerikanischer Autoren (28, 29, 42) nachzuprüfen, wurden folgende Infektionsversuche angestellt: Zunächst sollte untersucht werden, ob der Erreger die unverletzte Epidermis der Früchte zu durchdringen vermag. Zu diesem Zweck wurden Tropfen einer Schwärmsporenaufschwemmung auf die unverletzte Epidermis der Früchte aufgetragen. Um das Herablaufen der Tropfen von der glatten, schwer benetzbaren Kutikula zu verhindern, wurden auf die Fruchtschale Vaselinringe von etwa 0,5 cm Durchmesser aufgetragen, in die die Tropfen der Zoosporenaufschwemmung gebracht wurden. Auf der Epider-



Aus der Tomatenfrucht austretendes Mycel hat die Epidermisaußenwand durchbrochen.
In Abb. 6 ist die Epidermiszelle durch das Mycel nahezu ausgefüllt.

Vergr.: etwa 750 fach.

mis zeigten die Zoosporen zunächst ein normales Verhalten, sie setzten sich zur Ruhe, rundeten sich ab und keimten aus. Weitere Veränderungen waren nicht festzustellen; denn es konnten weder eingedrungene Keimschläuche noch abgestorbene Epidermiszellen beobachtet werden, die die Besiedlung der Zellen mit dem Parasiten angezeigt hätten. Hiernach vermag der Parasit anscheinend nicht in die Fruchtepidermis einzudringen.

Um nun festzustellen, ob auch bei jüngeren Früchten die Epidermis ein für den Parasiten unüberwindbares Hindernis darstellt, wurden Infektionen an Früchten jeglichen Alters an den verschiedensten Stellen der Epidermis vorgenommen. Von insgesamt 736 infizierten Früchten erkrankte nur eine fast reife Frucht. Wie spätere Untersuchungen lehrten, ist das Eindringen in die Frucht auf das Vorhandensein geringfügiger Verletzungen zurückzuführen. Die Fruchtepidermis scheint hiernach, auch bei ganz jungen Früchten, ein für den Parasiten unüberwindbares Hindernis zu sein.

Ein ganz anderes Verhalten zeigte der Pilz, wenn ihm die Gelegenheit geboten wurde, durch Wunden des Hautgewebes in das Innere der

Früchte zu gelangen. Schon ganz geringfügige Verletzungen genügen, wie der folgende Versuch lehrt:

Verletzt man die Frucht durch feine Nadelstiche und überschichtet die Wunden mit einer Zoosporensuspension, so tritt zumeist eine Erkrankung der Frucht ein. So wurden in einem meiner Versuche von 72 infizierten Tomatenfrüchten 43 befallen.

Dem Parasiten steht aber noch ein anderer Weg in das Innere der Frucht zur Verfügung, worauf schon Reed, Melhus und Milbrath hingewiesen haben, und zwar soll nach diesen Autoren der Erreger auch auf dem Umwege über den Fruchtstiel in die Frucht hineingelangen. Infektionsversuche, die die Angaben dieser Autoren nachprüfen sollten, wurden wie folgt durchgeführt:

Reife und grüne Früchte wurden mit dem Fruchtstiel abgenommen. Ein Stück des Fruchtstieles wurde an den geernteten Früchten gelassen. Auf die Schnittfläche des Fruchtstieles, der etwa  $1^1/2$  cm lang war, wurden Tropfen einer Zoosporenaufschwemmung gebracht. Nach zehn Tagen machten sich die ersten Anzeichen eines Befalls an den Früchten bemerkbar. Kleine braune Flecken, wie sie für die Phytophthora typisch sind, traten zuerst in der Nähe des Fruchtstieles an der Epidermis auf. Im Inneren der infizierten Früchte konnte der Weg, den das Mycel genommen hatte, deutlich an der Bräunung des Gewebes verfolgt werden. Die stärkste Verfärbung zeigte sich stets an der Stielansatzstelle und nahm von hier aus nach allen Seiten allmählich ab, so daß kein Zweifel darüber bestehen konnte, daß die Infektion vom Stielansatz ausgegangen war.

In anderen Versuchen wurden Tropfen einer Zoosporenaufschwemmung zwischen die Kelchblätter und die Frucht oder an die Stelle gebracht, wo die Kelchblätter dem Fruchtstiel ansitzen. Bei beiden Infektionsarten zeigte die nach mehreren Tagen eintretende Bräunung der Fruchtepidermis in der Nähe der Stielansatzstelle an, daß der Pilz in die Früchte eingedrungen war.

Wie verhalten sich nun die frisch geöffneten Blüten gegenüber dem Parasiten? Leider begegnet die Untersuchung der einzelnen Blütenorgane zu großen technischen Schwierigkeiten, als daß es mit den zur Verfügung stehenden Mitteln möglich gewesen wäre, die Zoosporensuspension so aufzubringen, daß die Infektion benachbarter Blütenteile ausgeschlossen ist. Dies ist um so bedauerlicher, als es im Hinblick auf die eben geschilderten Ergebnisse wichtig gewesen wäre, das Verhalten des jungen Fruchtknotens, aus dem sich später die Frucht entwickelt, eingehender zu verfolgen. Es konnten daher nur Kelch- und Blumenkronblätter untersucht werden. Hierbei ergab sich, daß bereits am Tage nach der Infektion an den infizierten Blütenorganen die ersten Krankheitssymptome in Erscheinung treten. Nach weiteren vier Tagen erscheinen die Sporangienträger. Gleichzeitig wird der Fruchtknoten braun.

Mithin stehen dem Parasiten, wie es die drei amerikanischen Autoren zu Recht angenommen hatten, zwei Wege offen, um in die Frucht einzudringen. Einmal kann der Pilz auf dem Umwege über den Fruchtstiel bzw. über die Hüllorgane der Blüte in das Innere der Frucht gelangen, zum anderen durch Verletzungen der Fruchtepidermis.

Worauf beruht es nun, daß die Epidermis der Früchte ein unüberwindliches Hindernis für die *Phytophthora* darstellt? Zur Klärung dieser Frage wurde das Hautgewebe näher untersucht. Hierbei stellte sich folgendes heraus:

Die Wände der Epidermiszellen, die nach außen durch die dünne Kutikula abgeschlossen werden, sind  $4-9~\mu$  dick. Zwischen der Außenmembran und den anderen Zellwänden der Epidermis besteht, was ihre

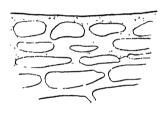


Abb. 7.
Querschnitt durch die Epidermis
einer Tomatenfrucht.
Die Kutineinlagerung ist durch die Punktierung veranschaulicht.

Vergr.: etwa 250 fach.

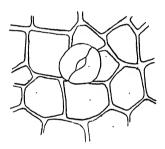


Abb. 8.
Spaltöffnung einer Tomatenfrucht.
Die punktierten Linien deuten die Zellwände der unter der Epidermis liegenden
Zellen an.

Vergr.: etwa 250 fach.

Stärke anbelangt, kein wesentlicher Unterschied. Auch die abgeflachten Hypodermzellen besitzen relativ stark entwickelte Membranen. Diese Zellen sind bedeutend kleiner als die sich nach innen anschließenden weitlumigen Parenchymzellen, deren Wände sehr dünn sind.

Um gegebenenfalls vorhandene Einlagerungen von Holz- oder Kutinsubstanzen in den Epidermiswänden oder den Membranen der darunterliegenden Zellschichten nachzuweisen, wurden Handschnitte mit Phloroglucin, Sudan III und Chlorzinkjod behandelt. Bei der Phloroglucinprobe trat keine Verfärbung der Membranen ein. Es kommen demnach Einlagerungen von Holzsubstanzen nicht in Betracht. Dagegen fielen die Versuche mit Sudan III und Chlorzinkjod positiv aus. Auch in dem subepidermalen Gewebe wurden Zellen mit kutinisierten Membranen festgestellt. Diese konnten bei älteren Früchten bis zu einer Tiefe von  $30-40\,\mu$  (gleich 2-3 Zellschichten) nachgewiesen werden (siehe Abb. 7).

Um bei der Tomatenfrucht über das Vorkommen und die Verteilung der Spaltöffnungen sowie über deren Funktionsfähigkeit ein klares Bild zu gewinnen, wurden auch diese eingehend untersucht. An einer grünen Frucht von 3,5 cm Durchmesser wurden in der Nähe der Spitze auf einer Fläche von ca. 200 qmm 14 Spaltöffnungen gefunden<sup>1</sup>) (siehe Abb. 8). An anderen Stellen der Frucht konnten Stomata allerdings nur ganz vereinzelt festgestellt werden. Hiernach sind also bei der Tomatenfrucht Spaltöffnungen vorhanden: doch kommen sie offenbar für den Parasiten als Eingangspforten nicht in Frage, weil sie, wie der negative Ausfall der Infektionsversuche nahelegt, mit dem Interzellularsystem des Mesokarps nicht in Verbindung stehen dürften2). In dieser Annahme wird man durch die Ergebnisse bestärkt, die Infiltrationsversuche mit Alkohol. Benzol und Petroläther ergaben: In allen Fällen verliefen die Versuche negativ. Mithin muß die Ursache für die Schutzwirkung des Hautgewebes lediglich in der besonderen Beschaffenheit der Epidermismembranen zu suchen sein. Worauf die Schutzwirkung im einzelnen beruht, ist allerdings auf Grund der eben geschilderten Beobachtungen nicht sicher zu entscheiden. Doch liegt für den Fall, daß die Keimhyphen auf rein mechanischem Wege durch die Außenwand in das Innere der Epidermiszelle gelangen, die Annahme nahe, daß der Widerstand, den die dickwandige und stark kutinisierte Fruchtepidermis den Keimhyphen entgegensetzt, zu groß ist, als daß er von diesen überwunden werden könnte.

## Vergleichende Untersuchungen über die Virulenz verschiedener *Phytophthora-*Isolierungen.

Zur Klärung der Frage, ob bei der Tomate verschiedene biologische Rassen des Parasiten auftreten, wurden, wie bereits eingangs erwähnt, sechs *Phytophthora*-Stämme von Tomatenfrüchten isoliert. Außerdem gelangten die in Deutschland bereits bekannten Kartoffelbiotypen "A" und "S" zur Untersuchung, die aus dem Kulturensortiment von Herrn Professor Müller stammten. Es standen somit acht Isolierungen zur Verfügung (siehe Tabelle 1).

Zunächst wurde das Verhalten dieser Stämme auf 81 Tomatensorten geprüft. Zu diesem Zweck wurden die Pflanzen im Gewächshaus in feuchten Kammern infiziert. Im Freiland verliefen Krautinfektionen wegen der großen Trockenheit im Sommer 1934 leider ergebnislos. Dagegen konnte mit bestem Erfolg die Prüfung der Früchte sowohl im Laboratorium an abgelösten Früchten als auch im Freiland durchgeführt werden.

- 1) Über Spaltöffnungen an Tomatenfrüchten berichtete bisher nur Krüger (22). Diese Autorin beschränkt sich aber auf die Mitteilung, bei 73 untersuchten Früchten nur eine Spaltöffnung gefunden zu haben.
- 2) Wegen der spärlichen Verteilungen der Spaltöffnungen gelang es leider nicht, Querschnitte durch diese herzustellen, um das Vorhandensein von Atemhöhlen nachzuweisen.

Т	a	h	A	١	١	e	1.

	Kar	toffel-		Tomaten-Isolierungen											
Stammes- bezeichnung	A	s	1	2	3	4	5	6							
Herkunftsort	Herkunftsort Dahlem Strecken-Bre		Bremen	Berlin	Bremen	Berlin	Berlin	Berlin							
Herkunftssorte .	Kultur- sorte	W-Rasse	unbekannt	Dänische Export	unbekannt	unbekannt	Susi Rost	Dänische Export							
Jahr der Isolierung	1924	1932	1933	1933	1933	1933	1933	1933							

#### Das Verhalten auf 81 deutschen und amerikanischen Tomatensorten.

Zunächst seien die Ergebnisse geschildert, die bei der Prüfung des Parasiten auf dem Tomatenlaub gewonnen wurden. Leider war es wegen Raummangels nicht möglich, die verschiedenen Parasitenherkünfte auf sämtlichen 81 Sorten zu gleicher Zeit zu prüfen, was im Hinblick auf die Forderung nach möglichst gleichartigen Versuchsbedingungen sehr wünschenswert gewesen wäre. Daher mußte die Prüfung in mehrere Einzelversuche aufgeteilt werden. Sämtliche Versuche wurden in geräumigen Kammern durchgeführt, in denen für eine hohe, konstante Luftfeuchtigkeit gesorgt war, um dem Parasiten die optimalen Lebensbedingungen zu gewähren. Die Pflanzen waren zum Zeitpunkt der Infektion etwa 50 Tage alt.

Die Infektion der Tomatenpflanzen wurde stets mit Zoosporensuspensionen durchgeführt.

Zunächst wurden die 81 Sorten auf ihr Verhalten gegenüber den Kartoffelbiotypen "A" und "S" geprüft. Hierbei stellte sich heraus, daß die Pflanzen von beiden Biotypen befallen wurden, wobei die untersten Blätter am stärksten mitgenommen wurden. Der Befall äußerte sich sowohl in Naß- als auch in Trockenfäuleflecken. Der "S"-Biotyp wies gegenüber dem "A"-Biotyp eine nur geringfügig höhere Virulenz auf. Die Häufigkeit der Trockenflecken an den Blättern überwiegt bei beiden Isolierungen gegenüber den Naßfäuleflecken bei weitem. Eine Einwanderung des Pilzmycels in die Stengelteile der jungen Tomatenpflanzen wurde aber in keinem Fall festgestellt, obwohl die Pflanzen vielfach bis zu 20 Tagen in den feuchten Kammern belassen wurden. Die Entwicklung der beiden Gruppen "A" und "S" wird also auf sämtlichen untersuchten Sorten nach kurzer Zeit so stark gehemmt, daß eine völlige Vernichtung der Pflanzen nicht zustande kommt.

Besondere Aufmerksamkeit wurde bei diesen Untersuchungen der Frage geschenkt, ob sich die einzelnen Sorten gegenüber dem "A"- und "S"-Biotyp nicht doch verschieden verhalten, wenn man die Geschwindigkeit, mit der sich der Parasit im Blattgewebe ausbreitet, als Maßstab

zugrunde legt. Aber auch dann waren deutliche Resistenzunterschiede weder gegenüber der "A"- noch der "S"-Gruppe festzustellen. Allerdings ist hierbei zu bedenken, daß von jeder Sorte nur wenige Pflanzen geprüft wurden. Daher ist es auch nicht möglich, "quantitative" Unterschiede im Verhalten der Sorten schlechthin abzulehnen. Doch können sie, falls wirklich vorhanden, nicht groß sein.

Auch die Stämme 1, 3 und 4 verhielten sich ebenso wie die beiden Kartoffelbiotypen. Drei bis vier Tage nach der Infektion traten auf den Blättern vorwiegend Trockenflecken auf. Diese nahmen im Laufe der nächsten Tage nur noch wenig an Umfang zu. Dieses Bild änderte sich auch nicht in den darauffolgenden zehn bis zwölf Tagen, obwohl für ge-

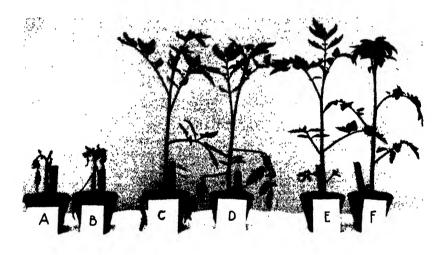


Abb. 9.

50 Tage alte Pflanzen der Tomatensorte "Tuckswood".

11 Tage nach der Infektion. A und B sind mit Stamm 2 infiziert,
C und D mit Stamm 5, E und F mit dem Biotypen S.

nügend hohe Luftfeuchtigkeit gesorgt war. Die Pflanzen blieben am Leben.

Naßfäuleflecken wurden nicht so häufig festgestellt wie Trockenflecken (s. auch Tabelle 3 auf Seite 602). Das Erscheinen von Sporangienträgern und Sporangien auf dem Laub war selten.

Ein gänzlich verändertes Bild trat bei den Infektionen der Pflanzen mit den Stämmen 2 und 6 in Erscheinung. Das abweichende Verhalten dieser Isolierungen kam bereits zwei bis drei Tage nach der Infektion zum Ausdruck. Die Blattflecken nahmen ohne Ausnahme anfangs keine bräunliche, sondern eine dunkelgrüne Färbung an. Nach vier bis fünf Tagen erschienen am Rande der Blattflecken und auf dem angrenzenden Gewebe Sporangienträger und Sporangien. Die Fäule

der Blätter schritt sehr schnell fort. Von den Blättern aus wuchs das Mycel in kurzer Zeit in die Blattstiele und von hier in den Haupttrieb. Nach zehn bis zwölf Tagen waren fast sämtliche Pflanzen vernichtet. In Verbindung mit den Pilzstämmen 2 und 6 zeigte sich auch fast kein unterschiedliches Verhalten mehr von Basal- und Spitzenblättern.

Ein den beiden Herkünften 2 und 6 sehr ähnliches Verhalten zeigte der Stamm 5. Dieser machte wohl auf den Tomatenpflanzen nicht so schnelle Fortschritte wie die Stämme 2 und 6, doch traten auch bei den Infektionen mit dieser Isolierung fast ausnahmslos Naßfäuleflecken auf den Blättern auf. Die Inkubationszeit von Stamm 5 war gegenüber den Stämmen 2 und 6 im Durchschnitt um ein bis zwei Tage länger. Daraus erklärt sich auch der teilweise schwächere Befall der Pflanzen bei der Bonitierung am zehnten Tage (siehe Abb. 9).

Ganz deutlich gelangt das unterschiedliche Verhalten der Herkunftsgruppen in der folgenden tabellarischen Zusammenfassung der Versuchsergebnisse zum Ausdruck.

Tabelle 2.

Das Verhalten der *Phytophthora*-Isolierungen auf den infizierten Tomatenpflanzen.

Bezeichnung der Stämme	•	•	•	1	3	3	4	5	6	A	s
Anzahl der infizierten Pflanzen											
Gesamtblattbefall in Prozenten.				26,31	97,41	65,74	50,69	75,11	98,94	31,35	49,38
Mortalitätsziffer in Prozenten .					100	i i			100	υ	0

Die Tabelle gibt an, wieviel Pflanzen insgesamt zu den Versuchen herangezogen und mit den einzelnen Isolierungen infiziert wurden. Aus der zweiten Reihe ist der prozentuale Blattbefall zu ersehen, der für jede Pflanze einzeln errechnet und dann zusammengezogen wurde. Weiterhin geht aus der Tabelle hervor, wieviel Prozent durch die einzelnen Parasitenherkünfte völlig vernichtet wurden (Mortalitätsziffer).

Die Stämme 2, 5 und 6 weisen eine sehr hohe Mortalitätsziffer auf. Bei den anderen Stämmen ist sie entweder verschwindend klein oder gleich null.

Die Tabelle 3 zeigt das Verhalten sämtlicher Stämme eingehend auf den einzelnen Sorten. Hier kommt die außerordentlich hohe Virulenz der Isolationen 2, 5 und 6 ebenfalls stark zum Ausdruck. Da nach dem Gesagten diese Stämme weder mit der "A"- noch mit der "S"-Gruppe identisch sein können, müssen wir fortan bei Phytophthora infestans mindestens drei verschiedene biologische Rassen unterscheiden. Im Hinblick darauf, daß sich der neue Biotyp von den bereits bekannten Biotypen durch seine

Tabelle 3.

Das Verhalten der Phytophthora-Isolierungen
auf 81 deutschen und amerikanischen Tomatensorten.

	Phytophthorastämme															
Tomatensorten		1		3		4		5		2		6		A	8	3
	Т	N	Т	N	Т	N	Т	N	Т	N	Т	N	Т	N	Т	N
Abundance Ailsa Craig Alice Roosevelt Allerfrüheste Freiland Augusta Beste von Allen Bides N. C. O. Bonner Beste Challenga Chemin Columbia Comet		0000   0000000	040+04++++1+	0011++1001+1	+0++1111+++0+	1011++000101	+	+++++4×4++××+×4×40		XXXXXXX+XXXXXXXXX	0	o XXXXXXX XXXX	co+ co  o+00+c	00   000 000   00	+++0+0++001++	0  0  10  0 +0
Dänische Export Dwarf Ponderosa Earliana Early Detroit Early Sunrise Erste Ernte Excelsior Expreß Ficarazzi First Early Frankreich Fürst Borghese Geheimrat Carl von Norden Geisenheimer Auslese Goldball Goldenes Jubiläum Golden Queen Groots Dudaim	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0000000000+000000	1++<>> 1+++0++++0>	1+0010010010	1014441+01+11	dod  +++  ++0d  cd+		00XXX0XX+00X		$\sim$ $\times$ $\times$ $\times$ $\times$ $\times$ $\times$ $\times$		$\times \times \times \times \times \times \times \circ \circ \times \times \times \times \times \times \circ \circ \times \times$	00++00000000000000000000000000000000000	100010000000000000000000000000000000000	1+401++0+++1440	1+111+1+1111000001
Großfrüchtige früheste rote Großfrüchtige gelbe Großfrüchtige gelbe Großfrüchtige rote Gulf State Market Heterosis Johannisfeuer Julimatador Julimatador June Pink Kirschförmige gelbe Kirschförmige rote König Humbert König Humbert Königin der Frühen Königin der Frühen Kondine Red Lebys Export Louisiana Pink Lukullus	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0   1++0++000+1   <0+0<+40040		++++	1+X1+0+41+0+4+110+1-11+16	0	\\(\circ\) \\\(\circ\) \\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\	0	$\times$ 0		$\times \times \circ \circ \times \times \times \times \circ \times \circ \circ \times \times \times \times \times \times \times \times$	+1+0+0+0+0+0+0+0+++0+++000	0101110101011100010011100	++0+0+0+++00+1+0+++0+0<++++0	0000+111+1+1011101111111110

	Phytophthorastämme															
Tomatensorten		1		3		4		5		2		6	1	1	8	}
	Т	N	T	N	Т	N	Т	N	Т	N	Т	N	Т	N	T	N
Optimus Perfektion Pfeffertomate Ponderosa Radio Recruit Rosalind Recruit Rosalind San Marzano Schöne von Lothringen Schöne von Lothringen Sieger Stirling Castle Stone Triumph Trophy goldgelbe Trophy goldgelbe Trophy scharlachrote Tuckstir Tuckswood Ueberreich Up to date Ventura Westlandia Yellow plum Zwerg früheste rote Solanum racemigerum, Zod. Solanum racemigerum, Zod.	+000000   00000000000000000000000000000	0000   00000000000000000000000000000000		0 < 1 < 1 < 1 < 1 < 1 < 1 < 1 < 1 < 1 <	1141000+1001+001000+0+04+011	+4++0001+0001-101110+0	0	+4X+4+04X4+4440 04++X+X4XX44++		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX		X > X X X X X X X X X X X X X X X X X X		o c ⊙ o o o o o ⊙ o o o o o o o o o o o	++++0+1+0+1+0++0+++01+1010111	011011+10++110101+++10+

Erläuterungen: T = Trockenflecken, N = Naßfäuleflecken (siehe S. 591). Die Anzahl der befallenen Blätter der infizierten Pflanzen wurde in Prozent angegeben. 0 = nicht geprüft, Blattbefall: - = fehlt,  $\odot = \text{bis zu } 33 \%_0$ , + = 34 - 66 %,  $\triangle = 67 - 90 \%_0$ ,  $\times = \text{über } 90 \%_0$ .

besonders hohe Virulenz auf der Tomate unterscheidet, sei er als "T"-Biotyp gekennzeichnet.

Die Stämme 1, 3 und 4, die sich auf dem Tomatenlaub ebenso wie "A" und "S" verhalten, seien vorläufig zu der Gruppe "L" zusammengefaßt.

Es seien jetzt die vergleichenden Virulenzprüfungen auf Tomatenfrüchten geschildert. Wie bereits mitgeteilt, gelingt es der *Phytophthora infestans* nicht, die unverletzte Epidermis der Tomatenfrüchte zu durchbohren. Der Parasit dringt nur an der Stielansatzstelle ein, wenn er nicht durch Verletzungen der Epidermis in das Fruchtinnere gelangt. Es fragt sich nun, ob dies für alle von der Tomate isolierten Stämme gilt.

Die Prüfung des Verhaltens der Früchte sämtlicher Tomatensortengegenüber einzelnen Stämmen einer jeden Gruppe wurde im Freiland vorgenommen und im Laboratorium unter Benutzung feuchter Kammern, wobei für eine möglichst hohe Luftfeuchtigkeit und eine konstante Temperatur von 19,5°C gesorgt war.

Infektionsversuche, die an unverletzten Tomatenfrüchten durchgeführt wurden, bewiesen, daß für sämtliche Isolierungen des Parasiten die unverletzte Epidermis ein unüberwindliches Hindernis darstellt. Ein Unterschied zwischen der "T"- und "L"-Gruppe war also nicht mehr festzustellen.

Weiterhin tauchte die Frage auf, ob die verschiedenen Stämme in ihrem Verhalten gegenüber dem Fruchtfleisch ähnliche Differenzen aufweisen wie gegenüber dem Tomatenlaub. Um diese Frage zu klären wurde die Methode der Wundinfektion benutzt, indem mit Hilfe einer Injektionsspritze je nach Größe der Frucht bis zu einem halben Kubikzentimeter einer Sporangienaufschwemmung in das Fruchtfleisch eingespritzt wurde.

Im Freiland wurden drei Früchte einer jeden Sorte mit den Isolierungen 1 und 6 und dem Biotyp "S" infiziert. Nach kurzer Zeit waren sämtliche infizierten Früchte befallen. Die Fäule schrickstrotz der großen Hitze und Trockenheit im Sommer 1934 schnell fort. Ein unterschredliches Verhalten der Sorten gegenüber den drei Herkünften wurde nicht beobachtet.

Bei den Prüfungen in dem Laboratorium wurden von jeder Sorte fünf bis zehn Früchte mit den Stämmen 1 und 6 sowie den Biotypen "A" und "S" infiziert. Diese Infektionen führten zu dem gleichen Ergebnis wie die Freilandversuche. Denn auch hier wurden sämtliche Früchte hefallen.

In der Stärke des Befalls der Früchte zeigten die Parasitengruppen "A", "S", "L" und "T" untereinander keine nennenswerten Unterschiede.

Bei Infektionsversuchen mit Stämmen der Gruppen "A", "L" und "T" an der Stielansatzstelle wurde festgestellt, daß sowohl der "A"-Biotyp als auch die "L"-Gruppe die Früchte ebenso zu befallen vermag wie der "T"-Biotyp, wenn die Zoosporenaufschwemmung auf den Fruchtstiel bzw. zwischen die Kelchblätter und die Fruchtepidermis gebracht wurde.

An dem Wachstum im Tomatenfruchtfleisch lassen sich die verschiedenen *Phytophthora*-Gruppen demnach nicht voneinander unterscheiden. Erst an dem Verhalten des Parasiten auf dem Tomatenlaub kann man erkennen, ob es sich um einen "T"-Biotyp oder um Stämme der "L"-Gruppe handelt.

## Das Verhalten auf den Kartoffeltestsorten.

Das Verhalten der Biotypen "A" und "S" auf den Kulturkartoffelsorten und den Kartoffel-W-Rassen sowie die Entstehung der W-Rassen ist bereits von Müller (31, 32) eingehend dargelegt worden und kann deshalb als bekannt vorausgesetzt werden. Es soll daher nur auf das Verhalten der sechs Tomatenstämme auf einigen Kultursorten und W-Rassen eingegangen werden.

Auf den Knollen und dem Kraut der geprüften Kulturkartoffelsorten: Ackersegen, Erstling, Industrie, Parnassia, Preußen und Wohltmann verhielten sich die Stämme von Tomaten genau so wie der "A"-Biotyp.

Ebenso wurden, wie aus der untenstehenden Tabelle hervorgeht, mit den Tomatenherkünften an folgenden W-Rassen Infektionsversuche durchgeführt:  $W_1$  (5/81, 13/31, 23/31),  $W_2$  (8/31) und  $W_3$  (9/31). Auch hier wurden sowohl die Knollen als auch das Laub infiziert. Ferner wurden mit den Stämmen 2 und 3, die der "T"- bzw. "L"-Gruppe angehören, Infektionsversuche an dem Kraut der  $F_1$ -Bastarde durchgeführt, die aus Kreuzungen von Solanum demissum $\times$  Solanum tuberosum (Parnassia) hervorgegangen sind (400/32 weiß und violett, 401/32, 402/32, 403 32, 404/32 weiß und violett und 405/32).

Tabelle 4.

Das Verhaiten der 6 Isolierungen von Tomaten auf den Kartoffeltestsorten.

		Bezeichnung der Stämme					
		1	2	3	4	5	6
Kulturkartoffel	K L	‡	‡	#	‡	#	#
W-Rassen (Testsortiment)	K L	±-	±-	±-	±-	±-	±-
	L	0	_	_	0	0	0

L = Laub; K = Knollen; + = Befall; - = kein Befall; 0 = Pflanzen wurden nicht geprüft.

Aus der Tabelle geht hervor, daß sämtliche Infektionsversuche an den Knollen und dem Laub der Pflanzen des "Müllerschen Testsortiments" so wie Infektionsversuche mit "A" verliefen, daß sich also die Stämme der "T"- und der "L"-Gruppe auf den W-Rasen genau so verhalten wie der "A"-Biotyp. Auch auf den Kulturkartoffeln stellten sich keine Unterschiede heraus<sup>1</sup>).

#### Das Verhalten auf anderen Solanaceen.

De Bary und andere Autoren (6, 48, 50, 52) wiesen bereits darauf hin, daß außer der Kartoffel und Tomate noch andere Solanaceen von Phytophthora infestans befallen werden. Es fragte sich daher, wie sich die von der Tomate isolierten Parasitengruppen "L" und "T" auf den in der Tabelle 5 genannten Solanaceen verhalten. In dieser Tabelle seien die

<sup>&#</sup>x27;) Im Züchter 1985, Haft 1, wies K. O. Müller (31) bereits auf meine seinerzeit noch nicht veröffentlichten Versuchsergebnisse über das Verhalten der Ph.-Gruppen "T" und "L" auf Kartoffeln und Tomaten hin.

Tabelle 5.

Das Verhalten der *Phytophthora*-Grappen "A", "L" und "T" auf jungen Selanaceen.

	Phytophthora- gruppen		
	A	L	T
Browallia demisea L			
Datura inermis Jacq			
Datura Stramonium L.			_
Datura Stramonium L			
Hyoscyomus $albus$ $oxdots$ $.$ $.$ $.$ $.$ $.$ $.$ $.$ $.$ $.$ $.$			
Nicandra physaloides L		_	
Petunia nyctagniflora Juss	_		
Solamum acaule Bitt. var. subexinterruptum	++	++	++
Solanum aggregatum Jacq	'o'	<u>'-</u> '	''
Solanum andigenum Juz. u. Buk. var. imilla f. chiar imilla	44	++	++
Solanum andigenum Juz. u. Buk. var. Hederesey mentatum	44	++	1
Solanum antipoviezii Buk	'0'	<u>'</u> _'	
Solanum demissum Lindl		_	
Solanum gracile Sendin	0	-	
Solanum guineense Lam	-	_	
Solanum Humboldtii Willd	+	+	++
Solanum humile Bernh. und Willd	+	- 1	-
Solanum Melongena L	Ŏ		
Solanum nodiflorum Jaca			
Solanum nodiflorum Jacq	_	_	
Solanum racemistorum Dun	+	+	++
Solanum racemigerum Zod	#	+	++
Solanum sisymbrifolium Lam			
Solanum tomatillo Phil	0	+	++

++= Starker Befall, die Pflanzen gehen zugrunde. += Befall, doch werden vorwiegend Trockenflecken entwickelt, die Pflanzen bleiben am Leben. -= Kein Befall. 0= nucht geprüft.

wichtigsten Ergebnisse dieser Prüfungen wiedergegeben. Durchgeführt wurden die Infektionen an jungen Pflanzen im Gewächshaus.

Aus der Tabelle kann man ersehen, daß die der Tomate nahe verwandten Formen: Sol. Humboldtii, Sol. racemigerum, Sol. racemiflorum und Sol. tomatillo von dem "T"-Biotyp besonders stark befallen werden. Es trat bei diesen Pflanzen der typische Phytophthora-Befall auf, wie er auch auf den Kultursorten beobachtet werden kann. Auch hier zeigte sich die höhere Virulenz des "T"-Biotypen auf den der Tomate nahe verwandten Solanaceen gegenüber der "L"- und "A"-Gruppe, durch die auf den Blättern vorwiegend Trockenflecken hervorgerufen wurden.

Sol. acaule, Sol. andigenum var. imilla und Hederesey mentatum hatten sehr stark unter allen drei *Phytophthora*-Gruppen zu leiden. Die Pflanzen wurden in kurzer Zeit vernichtet.

Ein schwacher Befall war bei Schizanthus pinnatus zu verzeichnen. Anders verhält es sich mit Sol. Melongena. An 13 infizierten Kultursorten dieser Spezies konnte kein Befall wahrgenommen werden. Dem steht die Mitteilung Bondarzeva-Monteverdes entgegen, wonach

Phytophthora infestans in Rußland, Schweden, Amerika und Japan an den Eierfruchtpflanzen größeren Schaden anzurichten vermag. Bondarzeva führte auch Infektionsversuche mit seinen Isolationen von Sol. Melongena durch. Hierbei gelang es, außer den Eierfruchtpflanzen Kartoffeln, aber nicht Tomaten zu infizieren. Haskell berichtet aus Amerika ebenfalls über den Befall von Eierfruchtpflanzen durch Phytophthora infestans. Die Pflanzen standen inmitten eines Kartoffelfeldes. Demnach gibt es außer den hier beschriebenen höchstwahrscheinlich noch eine vierte Phytophthora-Gruppe, die durch eine besonders hohe Virulenz auf Sol. Melongena gekennzeichnet ist. Tanaca hat allerdings bei krautfäulekranken Pflanzen von Sol. Melongena eine neue Phytophthora-Spezies festgestellt, nämlich Phytophthora Melongenae, bei der er außer Sporangien und Chlamydosporen Antheridien und Oogonien sowie Oosporen beobachtete. Diese neue Spezies befällt außer Sol. Melongena Kartoffeln, Tabak und Tomaten. Es ist daher nicht ausgeschlossen, daß auch bei Bondarzeva und Haskell der Befall von Sol. Melongena auf diese neue Spezies zurückzuführen ist.

## Das Verhalten weiterer 61 Phytophthora-Isolierungen von Kartoffeln auf dem Tomatenlaub.

Da sich der "T"-Biotyp auf den Kartoffeln ebenso verhält wie der "A"-Biotyp, lag die Vermutung nahe, daß die Möglichkeit besteht, unter Isolierungen von der Kartoffel einen "T"-Biotyp festzustellen. Die Annahme, daß der "A"- und "T"-Biotyp auf dem Kartoffelkraut vergesellschaftet vorkommen, wird noch durch die Tatsache gestützt, daß die Tomaten im Freiland durch die *Phytophthora* dann am stärksten zu leiden haben, wenn sie in der Nähe krautfäulekranker Kartoffelfelder stehen (42).

Um nun das Verhalten weiterer *Phytophthora*-Isolierungen als der bisher untersuchten vor allem auf den Tomatenpflanzen zu prüfen, wurden Infektionsversuche mit 61 Stämmen von Kartoffeln auf dem Laub verschiedener Tomatensorten durchgeführt. Die Isolierungen wurden mir von Herrn Professor Müller übergeben. Sie wurden im Jahre 1934 in der Nähe von Berlin von Kartoffelfeldern isoliert, in deren näherer Umgebung keine Tomaten standen. Die Isolierungen waren bereits auf Kulturkartoffelsorten und "W"-Rassen geprüft worden, wobei sie sich ausnahmslos wie "A"-Stämme verhielten. Vor der Prüfung auf dem Tomatenlaub befanden sich die Pilzstämme erst kurze Zeit in Kultur.

Bei den Infektionen mit den 61 Isolierungen von Kartoffeln stellte sich heraus, daß auf dem Laub der Tomate sämtliche Stämme vorwiegend Trockenflecken hervorriefen. Es handelte sich bei diesen Isolationen demnach tatsächlich nur um Stämme des "A"-Biotypen.

Hierauf ist es vielleicht auch zurückzuführen, daß z. B. die von Volk (51) an Tomatenpflanzen angestellten Infektionsversuche mißlangen; denn

.\$08 Kurt Röder;

die hier durchgeführten Versuche haben gezeigt, daß das Kraut nur durch den "T"-Biotyp stärker geschädigt wird. Bei Volks Versuchen handelte es sich aber aller Wahrscheinlichkeit nach um eine Isolierung von Kartoffeln, also um einen "A"-Biotyp. Das Mißlingen der Infektionsversuche "der im Hellen und in normaler Luft wachsenden Tomaten" (S. 63) führt Volk darauf zurück, daß die Pflanzen zu jung waren. Da die jungen Tomatenpflanzen bei meinen Infektionsversuchen jedoch auch von dem "A"-Biotyp befallen wurden, kann das Mißlingen der Versuche nicht auf die Infektion mit dem "A"-Biotyp zurückgeführt werden, sondern entweder darauf, daß die Pflanzen "in normaler Luft", also bei einer zu geringen Luftfeuchtigkeit, standen oder darauf, daß ein Phytophthora-Stamm für die Versuche verwendet wurde, der bereits stark degeneriert war (vgl. die Untersuchungen über Degenerationserscheinungen bei Phytophthora infestans von Orth und Lehmann, 34).

Reddick und Crosier (41), die ebenfalls Tomatenpflanzen infiziert hatten, gelang es, anfangs einen starken Befall am Tomatenlaub hervorzurufen. Durchgeführt wurden diese Versuche mit einem Phytophthora-Stamm von Tomaten. Nach einiger Zeit jedoch ließ die Virulenz dieser Isolierung nach. Auch hier besteht ebenso wie bei Volk die Wahrscheinlichkeit, daß es sich um eine Degeneration des Pilzes handelt, die vielleicht durch ein ungeeignetes Nährsubstrat verursacht wurde, zumal später das Absterben sämtlicher Pilzkulturen erfolgte. Die beiden Autoren Reddick und Crosier begründen mit der Abnahme der Virulenz ihrer Phytophthora-Isolierung von Tomaten die Ansicht, daß es sich nur um eine zeitlich begrenzte höhere Virulenz bei der Tomate handele und Berg deshalb nicht zu der Auffassung berechtigt sei, bei der Phytophthora infestans eine biologische Spezialisierung anzunehmen. Der Einwand der beiden Autoren kann aber schon insofern nicht als stichhaltig anerkannt werden, als sie ihre Versuche nicht mit der Phytophthora-Isolierung von Berg durchgeführt haben. Darüber hinaus wird die Auffassung des zuletzt genannten Autors noch durch meine Versuchsergebnisse in vollem Umfange gerechtfertigt. Der "T"-Biotyp büßte bei meinen Versuchen, auch nach mehrjähriger Kultur, seine Virulenz gegenüber der Tomate nicht ein. Er näherte sich also in seinem Verhalten nicht der "L"-Gruppe, die das Tomatenlaub nur schwach befällt.

Die Stämme dieser Gruppe verhalten sich auf dem Tomatenlaub, den Kulturkartoffelsorten und den W-Rassen genau so wie der "A"-Biotyp. Infektionen, die bei den Tomatenfrückten an der Stielansatzstelle und an Wunden (Stichverletzungen) vorgenommen wurden, führten sowohl bei den Stämmen 1, 3 und 4 als auch bei dem "A"-Biotyp zu einem positiven Ergebnis. Nimmt man an, daß "A" und "L" identisch sind, so erklärt sich auch, daß die Früchte im Freiland unter der Krankheit stärker zu leiden

haben als die Blätter, da der "A"-Biotyp nach den bisherigen Untersuchungen weiter als die "T"-Gruppe verbreitet ist¹).

Da sich die "L"-Gruppe, bestehend aus den Stämmen 1, 3 und 4, bei sämtlichen durchgeführten Untersuchungen genau so verhielt wie der "A"-Biotyp, können die Isolierungen der "L"-Gruppe dem "A"-Biotyp ohne weiteres hinzugerechnet werden.

# Bemerkungen zur Morphologie der drei Phytophthora-Biotypen.

Über die Morphologie der Biotypen "A" und "S" hat Müller (31, 33) berichtet, dem es gelang, Unterschiede bei "A"-Stämmen verschiedener Herkunft nachzuweisen. Die hier durchgeführten morphologischen Untersuchungen erstrecken sich auf die Sporangiengröße der *Phytophthora*-Stämme, um festzustellen, ob auch hier gegenüber dem "A"-Biotyp Unterschiede auftreten. Es wurden zu diesem Zweck 300 bis 400 Sporangien eines jeden Stammes und einiger Einsporangienkulturen gemessen. Die Messungen erstreckten sich zur Kontrolle auch auf die "A"- und "S"-Biotypen. Die Sporangien wurden von Kartoffelknollen abgenommen und von Tomatenfrüchten, die im Laboratorium infiziert worden waren. Die Messungen der Stämme wurden nach 1½, Jahren wiederholt.

Hierbei ergaben sich Mittelwerte, die

für die Länge zwischen 26,04 und 28,37 µ und

für die Breite zwischen 16,84 und 19,08 µ lagen.

Die Differenzen der Mittelwerte der Stämme lagen bei sämtlichen Messungen sowohl für die Länge als auch für die Breite der Sporangien innerhalb der Fehlergrenzen. Demnach traten also morphologische Unterschiede zwischen den Tomatenisolierungen, die sich in der Sporangiengröße hätten ausdrücken können, nicht auf.

# Die Entstehung und geographische Verbreitung des "T"-Biotypen.

Nach den bisher vorliegenden Untersuchungsergebnissen, die sich mit der Verbreitung der Phytophthora infestans beschäftigen, kann man erkennen, daß dieser Parasit in allen gemäßigten Zonen der Erde vorkommt und daß, wie Müller annimmt, es sich hierbei hauptsächlich um den "A"-Biotyp handelt. Der "S"-Biotyp dagegen ist bis jetzt nur ganz vereinzelt beobachtet worden. Er trat erst zutage, nachdem es gelungen war, Phytophthora-resistente Kartoffeln zu züchten. Dieser Biotyp wurde im Jahre 1932 vereinzelt auf den W-Rassen, an mehreren Stellen in Deutschland, festgestellt (30, 31). Bei dem "T"-Biotyp handelt es sich aller Wahrscheinlichkeit nach um eine Spezialisierung, die bereits seit langem be-

<sup>&#</sup>x27;) Der "S"-Biotyp, der von diesen Stellen aus ebenfalls in die Frucht einzudringen vermag, braucht in diesem Zusammenhang nicht berücksichtigt zu werden, weil er bisher von Tomatenpflanzen noch nicht isoliert worden ist.

610 Kurt Röder:

stand, aber nicht beachtet worden ist; denn außer in Europa tritt dieser Biotyp, wie die Untersuchungen Bergs zeigen, auch in Amerika und Australien auf.

Das Auftreten dieses Biotypen ist aller Wahrscheinlichkeit nach auf eine Auslesewirkung seitens der Wirtspflanze zurückzuführen, wie es z. B. bei dem "S"-Biotyp vermutet werden kann (Müller, 30, 31). Dieser trat erst einige Jahre nach dem Beginn des Anbaues der W-Rassen in den Gegenden auf, in denen diese angebaut wurden. Der "S"-Biotyp wurde wahrscheinlich aus dem "Gemisch" des "A"-Biotypen herausselektiert und vermochte sich auf den W-Rassen zu vermehren, ohne in seiner Entwicklung auf dem Laub derselben durch den "A"-Biotyp gehemmt zu sein. Es dauerte einige Jahre, bis sich der "S"-Biotyp so weit ausgebreitet hatte, daß ein stärkerer Befall des Laubes offensichtlich wurde.

Ähnlich verhielt es sich wohl mit dem "T"-Biotyp, den man bisher nur von der Tomate isoliert hat und dessen Vermehrung und Ausbreitung auf dem Laub der Tomate nicht durch andere Biotypen gehemmt ist.

Eine "Anpassung" an die jeweilige Wirtspflanze auf dem Wege über eine temporäre Virulenzsteigerung liegt offenbar nicht vor, sonst hätte z.B. der "T"-Biotyp, der zwei Jahre lang nur auf Kartoffeln gehalten wurde, seine Virulenz der Tomate gegenüber verlieren und sich in seinem Verhalten dem "A"-Biotypen nähern oder angleichen müssen. Diese Erscheinung trat aber nicht ein; der "T"-Biotyp hat seine Virulenz unverändert beibehalten.

# Die Aussichten für die praktische Züchtung.

Welche Schlüsse lassen sich aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit für die praktische Züchtung wie für die Praxis überhaupt ziehen?

Nach der einwandfreien Feststellung des Vorhandenseins eines besonderen Biotypen bei der Tomate lassen sich die widersprechenden Meldungen über die Resistenz oder Anfälligkeit der einen oder anderen Tomatensorte ganz anders beurteilen. In der vorliegenden Abhandlung wurde nachgewiesen. daß unter den 81 deutschen und amerikanischen Kultursorten auch nicht eine einzige gegen den "T"-Biotyp resistente Tomatensorte vorhanden war. Auch mehrere mit Sol. Lycopersicum sehr nahe verwandte Wildformen zeigten keine Resistenz gegenüber dem "T"-Biotypen. Es ist deshalb zu vermuten, daß es auch unter den übrigen in Kultur befindlichen Tomatensorten keine resistenten oder gar immunen Sorten gibt. Dieselben Verhältnisse können wohl auch auf die in Amerika angebauten Tomatensorten angewendet werden, zumal sich die von Reed als immun bezeichnete Sorte "Red Cherry", die wahrscheinlich mit der Sorte "Kirschförmige Rote" identisch ist, keineswegs als resistent oder gar immun erwies. Die Sorten "Red Bock" und "Buckeye State" sollen sehr widerstandsfähig sein. Nach Melhus sollen "Livingstone Coreless" und "Carter's Sunrise"

resistent gegen die *Phytophthora* sein. Die vorliegenden Versuchsergebnisse lassen es aber als sehr wahrscheinlich erscheinen, daß auch diese immunen oder resistenten Sorten von dem "T"-Biotyp befallen werden.

Demnach bleibt zur direkten Bekämpfung der Krankheit nach wie vor nur das eine übrig, die Pflanzen mit Kupferkalkbrühe zu bespritzen. Das schließt aber nicht aus, weiterhin nach Tomatensorten oder Solanaceen zu suchen, die gegenüber der *Phytophthora* resistent sind, wenn sich auch die Solanaceen, die bisher untersucht worden sind und sich mit der Tomate einkreuzen lassen, als anfällig erwiesen haben. Als Vorbeugungsmaßnahme kann weiterhin empfohlen werden, Tomaten nicht in der Nähe von Kartoffeldern, vor allem von Frühkartoffeln, anzupflanzen, weil gerade hier der stärkste Befall beobachtet wurde.

## Zusammenfassung.

- 1. Die Krankheit verläuft bei der Tomate, was das Laub anbelangt, ähnlich wie bei dem Kartoffelkraut: Die Keimschläuche der Zoosporen dringen in die unverletzten Epidermiszellen ein und gelangen von dort in das Interzellularsystem des Blattes. Die Inkubationszeit schwankt zwischen vier und sechs Tagen. Nur insofern unterscheidet sich das Krankheitsbild, als die Fruktifikation des Erregers auf dem Tomatenlaub nicht ganz so uppig wie auf dem Kartoffellaub ist.
- 2. Ein anderes Verhalten gegenüber dem Parasiten zeigt die Tomatenfrucht. Bei dieser stellt die Epidermis ein für den Parasiten unüberwindliches Hindernis dar. Nur wenn das Hautgewebe verletzt ist, gelangt der Erreger auf direktem Wege in das Fruchtinnere. Ein zweiter (indirekter) Weg, in die Frucht einzudringen, steht dem Parasiten auf dem Umwege über den Fruchtstiel und die Kelchblätter zur Verfügung. Der Befall der Früchte nimmt daher in den meisten Fällen von der Stielansatzstelle seinen Anfang: Es treten kleine, braune Flecken an der Epidermis auf, die zusammenfließen, einsinken und schließlich die ganze Frucht überziehen können. Auch auf den Früchten gelangt der Parasit zur Fruktifikation, doch ist hier die Dichte des Sporangienträgerrasens viel geringer als auf den Blättern; es sei denn, daß das Hautgewebe Verletzungen aufweist, auf denen der Parasit zu sehr üppiger Fruktifikation gelangt.
- 3. Bei der Tomate treten mindestens zwei deutlich verschiedene biologische Rassen der *Phytophthora infestans* auf. Die eine mit "T" bezeichnete Rasse zeigte auf allen Sorten des Tomatensortiments eine außerordentlich hohe Virulenz. Innerhalb von zehn bis zwölf Tagen wurden 50 bis 60 Tage alte Pflanzen nahezu vollständig vernichtet.

Die andere Rasse, vorläufig als "L"-Gruppe beseichnet und höchstwahrscheinlich mit der "A"-Gruppe identisch, zeichnet sich gegenüber "T" dadurch aus, daß sie auf den Tomatenblättern vorwiegend Trocken-

flecken hervorruft. Ist dieser Zustand erreicht, so entwickeit sich der Parasit nicht mehr weiter. Infolgedessen sterben auch mit der Gruppe "L" infizierte Pflanzen nicht ab. Beiden Rassen ist aber gemeinsam, daß sie das unverletzte Hautgewebe der Tomatenfrucht nicht anzugreifen vermögen. Weiterhin verhalten sie sich im Fruchtinnern gleich; dort vermögen sich beide üppig zu entwickeln.

- 4. Die von der Kartoffel isolierten "A"- und "S"-Stämme zeigten suf der Tomate ein der "L"-Gruppe entsprechendes Verhalten, d. h. sie riefen auf den Tomatenblättern vorwiegend Trockenflecken, im Innern der Früchte die typischen Symptome der *Phytophthora*-Fäule hervor. Hierauf und auf die Tatsache, daß sich die "L"-Gruppe auf den Kulturkartoffeln und den Kartoffel-W-Sorten ebenso verhält wie die "A"-Rasse, gründet sich die Annahme, daß die "L"-Gruppe mit dem "A"-Biotyp identisch ist.
- 5. Die untersuchten Tomatensorten zeigten keine deutlichen Resistenzunterschiede, weder in Verbindung mit der "T"- noch mit der "L"-Gruppe. Auch die der Kulturtomate systematisch sehr nahe stehenden Sol racemigerum, Sol. racemiflorum, Sol Humboldtii und Sol. tomatillo sind gegentüber dem "T"-Biotypen hoch anfällig. Die Aussichten für die praktische Züchtung, zu Phytophthora-resistenten Tomaten zu gelangen, sind daher zur Zeit sehr gering. Im Hinblick auf das Fehlen von Resistenzunterschieden bei den untersuchten Wildarten und den 81 Kulturformen sind auch die Nachrichten aus Amerika über Phytophthora-resistente oder gar immune Tomatensorten mit der nötigen Vorsicht aufzunehmen.

### Literaturverzeichnis.

- 1 Bancroft, C. K., The brown rot of the tomato. Journ. Bd. Agric. (London) 16, 1910, 1012.
- 2 Bary, A. de, Die gegenwärtig herrschende Kartoffelkrankheit, ihre Ursache und Verhütung. Leipzig 1861.
- 3 Bary, A. de, Researches into the nature of the potato fungus, *Phytophthora* infestans. Journ. Boy. Agr. Soc. ser. 2; 12, 1876, 289.
- 4 Berg, A., Tomato late blight and its relation to late blight of potato. West Virg. Agr. Exp. Stat. Bull. 205, 1926, 1.
- 5 B5hmig, F., Betrachtungen zum Tomatensortiment. Gartenweit 36, 1982, 79.
- 6 Bondarseva-Monteverde, V. N., Phytophthera infertane (Mont) de By on tomatoes. Morbi plantarum, Leningrad, 15, 1926, 1—27.
- 7 Bondarzeva-Monteverde, V. N., Some complementary observations on Phytophthora infestane (Mont) de By on tomatoes. Morbi plantarum, Leningrad, 16, 1927, 76.
- 8 Boock, K., Tomatemeorten und ihre verschiedene Widerstandsfähigkeit gegen Krankheiten. Gartenweit 31, 1927, 221.
- 9 Crosier, W., Studies in the biology of Phytophthora infestane (Mont) de By. Corn. Univ. Agr. Exp. Stat. Mem. 156, 1934, 1.
- 10 Fischer, E. und Gäumann, E., Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilse. Jena 1979.

- 11 Fischer, M., Beiträge sur Kenntnis der Spaltenapparate an Früchten und zur Durchlüftung der Hohlfrüchte. Beihefte zum Botanischen Zentralbistt 45, 1, 1929, 271—889.
- 12 Fischer, M., Ergebnisse der Spaltöffnungsforschung an Früchten. Biologisches Zentralblatt 29, 1929, 281.
- 18 Garcin, M. A. G., Sur les fruits des Solamées. Journ. de Bot. 2, 1888, 108.
- 14 Giddings, N. J. and Berg, A., A comparison of the late blight of tomate and potato. Phytopathology 9, 1919, 209.
- 15 Guttenberg, H. v., Beiträge zur physiologischen Anatomie der Pilsgallen. Leipzig 1905.
- 16 Haskell, R. J., Phytophthora infestans on eggplant in the United States. Phytopathology 11, 1921, 504.
- 17 Hecke, L., Untersuchungen über Phytophthora infestans de By als Ursache der Kartoffelkrankheit. Journal für Landwirtschaft 46, 1898, 98—142.
- 18 Howitt, J. E., Phytophthora infestans causing damping off of tomatoes. Phytopathology 7, 1917, 319.
- 19 Kern, F. D. and Orton, C. R., Phytophthora on tomatoes. Phytopathology 6, 1916, 284.
- 20 Klemt, F., Über den Bau und die Entwicklung einiger Solanaceenfrüchte. Dissertation. Universität Berlin 1907.
- 21 Köck, G., Die wirtschaftliche Bedeutung der Kartoffelkrautfäule und die Möglichkeit der Bakämpfung dieser Krankheit. Österreichische Zeitschrift für Kartoffelbau 1. 1921. 20. 28.
- 22 Krüger, M., Vergleichend entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an den Fruchtknoten und den Früchten zweier Solanaceen-Chimären und ihrer Elternarten. Planta 17, 1982, 872.
- 23 Lampe, P., Zur Kenntnis des Baues und der Entwicklung saftiger Früchte. Dissertation, Halle-Wittenberg 1884.
- 24 Lange, F., Vergleichende Untersuchungen über die Blattentwicklung einiger Solanum-Chimären und ihrer Elternarten. Planta 3, 1927, 181.
- 25 Linsbauer, K., Die Epidermis. Handbuch der Pflanzenanatomie. Berlin, 1980, 207.
- 26 Marchal, E., Die im Jahre 1902 in Belgien beobachteten Pilzkrankheiten. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten 18, 1903, 216.
- 27 Mayer-Alberti, M., Vergleichende Untersuchungen über den Blattbau einiger Solanum-Pfropfbastarde. Institut für allgemeine Botauik, Hamburg, Mitteilung 6, 1924, 1.
- 28 Melhus, J. E., Infections and resistance study of *Phytophthora infestans* on tomato. Phytopathology 6, 1916, 107.
- 29 Milbrath, D. G., Late blight of tomate. Monthl. Bull. Dept. Agr. California 17, 1928, 271.
- 30 Müller, K. O., Bemerkungen zur Frage der "biologischen Spezialisierung" von Phytophthora infestans. Angewandte Botanik 15, 1988, 84.
- 81 Müller, K. O., Über den augenblicklichen Stand unserer Kenntnis zur biologischen Spezialisierung des Krautfäuleerregers der Kartoffel (Phytophthora infestane). Der Züchter 7, 1985, 5—12.
- 82 Müller, K. O., Über die Erzeugung krankheitsresistenter Pflanzenrassen. Der Pflanzenban 8, 1982, 265.
- 88 Müller, K. O., Untersughungen über die Kartoffelkrautstale und die Biologie ihres Erregers. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt 16, 1928, 197.

- 34 Orth, H. und Lehmann, H., Über Degenerationserscheinungen bei Phytophthora infestans. Der Züchter 7, 1985, 12.
- 35 Pape, H., Krankheiten und Schädigungen der Handels-, Öl- und Gemüsepflanzen. Mitteilungen der Biologischen Reichsanstalt 40, 1930, 107.
- 86 Payen, M., Végétation du Botrytis infestans à l'interieur des fruits du Solanum lycopersicum, erythrocarpum (tomate). Compt. rend. Acad. sci., Paris 25, 1847, 521.
- Pethybridge, G. H. and Lafferty, H. A., A disease of tomato and other plants caused by a new sp. of Phytophthora. Sci. Proc. Roy. Dublin Soc. 1919, 487.
- 38 Rath, L., Tomatensorten. Ihre verschiedene Widerstandsfähigkeit gegen Krankheiten. Gartenwelt 31, 1927, 562.
- 39 Reddick, D., A fourth Phytophthora disease of tomato. Phytopathology 10, 1920, 528.
- 40 Reddick, D., Blight resistant potatoes. Phytopathology 18, 1928, 483.
- 41 Reddik, D. and Crosier, W., Biological specialization in *Phytophthora infestans*. Amer. potato Journ. 1933, 129.
- 42 Reed, H., Does *Phytophthora infestans* cause tomato blight? Phytopathology 2, 1912, 250.
- 43 Reinhold, J., Gibt es gegen ungünstige Witterung besonders widerstandsfähige Tomatensorten? Obst- und Gemüsebau 76, 1930, 196.
- 44 Reinhold, J., Tomaten-Sortenversuche auf den Moorversuchsfeldern von Großbeeren. Möllers Deutsche Gärtner-Zeitung 44, 1929, 338.
- 45 Schaffnit, E. und Volk, A., Über den Einfluß der Ernährung auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Parasiten. 1. Teil. Forschungen auf dem Gebiet der Pflanzenkrankheiten und der Immunität im Pflanzenreich. Jena 1927, Heft 3, 1.
- 46 Schaffnit, E. und Volk, A., Uber den Einfluß der Ernährung auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Parasiten. 2. Teil. Phytopathologische Zeitschrift 2, 1930, 535.
- 47 Schick, R., Über das Verhalten von Solanum demissum, Solanum tuberosum und ihren Bastarden gegenüber verschiedenen Herkünften von Phytophthora infestans Der Züchter 4, 1932, 233.
- 48 Sorauer, P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 5. Auflage, Band 2, Berlin 1928.
- 49 Springer, A., Tomatensorten und ihre Widerstandsfähigkeit gegen Krankheiten. Gartenwelt 31, 1927, 261
- 50 Tanaca, T., New japanese fungi. Notes and translations. Mycologia 9, 1917, 249.
- 51 Volk, A., Beiträge zur Kenntnis der Wechselbeziehungen zwischen Kulturpflanzen, ihren Parasiten und ihrer Umwelt auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Krankheiten. Phytopathologische Zeitschrift 3, 1931, 1.
- 52 Vowinckel, O., Die Anfälligkeit deutscher Kartoffelsorten gegenüber Phytophthora infestans (Mont) de By, unter besonderer Berücksichtigung der Untersuchungsmethoden. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt 14, 1926, 588.
- 53 Wilhelm, R., Über das Vorkommen von Spaltöffnungen auf den Karpellen. Dissertation, Königsberg 1885.
- 54 Wiltshire, S. P., A note on *Phytophthora infestans* occurring on tomatoes. Univ. Bristol, Ann. Rep. Agr. and Hort. Res. Stat. 1915, 92.
- 55 Wulff, Th., Studien über verstopfte Spaltöffnungen. Österreichische botanische Zeitschrift 48, 1898, 201, 252, 298.
- 56 — Diseases of plants in the United States in 1932. Plant disease Reporter Suppl. 85, 1933, 44.

# Aus dem phytopathologischen Laboratorium der Landwirtschaftlichen (Timirjasjewschen) Akademie in Meskau.

# Einfluß von Brandbefall auf Wachstum und Habitusbild der Wirtspflanze.

Von

## Alexander Buchheim, Moskau.

Mit 3 Textabbildungen.

In unserer im Jahre 1930 erschienenen Arbeit wurde ausführlich die Einwirkung des Hirsebrandes auf die Stengel- und Blattentwicklung der Wirtspflanze untersucht. Wir konnten eine größere Bestockung und eine erhöhte Blätterzahl bei brandigen Hirsepflanzen im Vergleich mit gesunden und somit eine stimulierende Wirkung des Brandpilzes auf die Stengelund Blattentwicklung der wachsen den Pflanze feststellen.

In vorliegender Arbeit haben wir uns mit dem Längenwachstum von brandbefallenen und gesunden Hirsepflanzen befaßt. In bezug auf das Wachstum von brandigen und gesunden Pflanzen gehen die Meinungen von verschiedenen Forschern auseinander: einerseits wird behauptet, daß durch den Brandbefall das Wachstum der Pflanzen gefördert wird (Brefeld, Jaczewski, Vavilov), während andere Forscher (Morosov, Schmanew und Buchheim, Sampson und Davies, Taliev und Trussowa) eine hemmende Wirkung der Brandpilze auf die Wirtspflanze feststellen.

Um diese Frage endgültig zu lösen, haben wir das Längenwachstum von brandbefallenen und gesunden Hirsepflanzen untersucht und die erhaltenen Zahlenwerte variationsstatistisch bearbeitet.

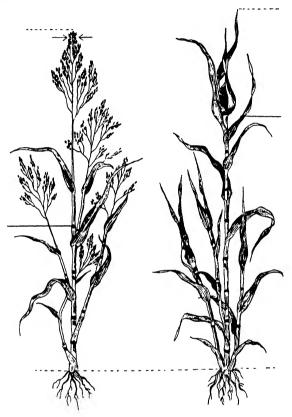
Für die Versuche wurde eine reine Linie von Hirse verwendet. Die Samen wurden vorläufig mit Brandsporen vermischt (0,5 g Sporen je 10 g Samen) und ausgesät. Zur Kontrolle dienten Pflanzen, die ebenfalls aus 10 g Hirsesamen, aber ohne vorhergehende Vermischung mit Brandsporen erhalten wurden. Nach Verlauf von 15 bis 20 Tagen wurden die infizierten und gesunden Pflanzen in Reihen von 20 cm Abstand pikiert (der Abstand zwischen den einzelnen Pflanzen in der Reihe betrug 5 cm). Infizierte und gesunde Pflanzen wurden auf verschiedene Beete verpflanzt.

Bei der Längenbestimmung von brandigen und gesunden Pflanzen haben wir jede brandige und gesunde Pflanze zweimal gemessen (Abb. 1). Erstens wurde die Länge von der Stengelbasis bis zum obersten Scheide-

knoten gemessen. Bei diesem Verfahren mußte die gesteigerte Blätterund Knotenzahl von brandigen Pflanzen im Vergleich mit gesunden zum Ansdruck kommen.

Zweitens wurde die Gesamtlänge von kranken und gesunden Hirsepflanzen gemessen.

Die Beurteilung der Gesamtlänge von brandigen und gesunden Pflanzen bereitete uns einige Schwierigkeiten.



Bei gesunden Pflanzen verstehen wir unter Gesamtlänge die Länge von der Stengelbasis bis zur Rispenspitze (die Rispe wird bei der Messung ausgezogen).

Brandige Hirsepflanzen bilden bekanntlich gar keine Blütenrispen; statt der letzten entsteht bei kranken Pflanzen ein Brandkolben, der von einigen aufrechtstehenden Blättern umgeben ist. Diese oberständigen Blätter bilden um den Brandkolben eine Art von Hülle und werden dicht um

den obersten Scheideknoten angelegt. Der Brandkolben bleibt in den breiten Blattscheiden dieser oberständigen Blätter fast völlig versteckt und kommt nur bei der Zerstörung derselben zum Vorschein. Deshalb haben wir für das Maß der "Gesamtlänge" von brandigen Pflanzen den Abstand von der Stengelbasis bis zur Spitze des längsten oberständigen Blattes genommen.

Wir sind uns wohl bewußt, daß durch dieses Verfahren die Gesamtlänge von brandigen und gesunden Pflanzen nicht miteinander verglichen werden kann, da bei der von uns durchgeführten Messung verschiedene Pflanzenteile von kranken und gesunden Pflanzen gemessen wurden.

Wir glauben aber, daß durch die in unserer Arbeit angeführten Zahlen die Eigentümlichkeiten von brandigen und gesunden Hirsepflanzen deutlicher zum Ausdruck kommen und es begreiflich wird, warum brandige Pflanzen im Felde höher als gesunde erscheinen.

Die Resultate unserer Messungen sind den Tabellen 1, 2 und 3 zu entnehmen.

Tabelle 1.
Längenmessung der beblätterten Stengel
von brandigen und gesunden Hirsepflanzen.
(Stengelbasis bis oberster Scheideknoten.)

* *************************************			Gesa	untlä	nge	in Z	enti	nete	rn	
	20-30	30-40	09-01	20-60	60-70	70 - 80	90 - 90	90-100	100-110	110-120
Zahl der gemessenen brandigen Pflanzen Zahl der gemessenen gesunden Pflanzen	3 17	18 68	22	35 71	56 28	68 5	45 1	15	1	

Hieraus ergibt sich der Mittelwert der Länge (in Zentimetern) von beblätterten Stengeln für brandige Pflanzen L=57,3  $\pm$  16,2; für gesunde Pflanzen ist L<sub>1</sub>=36,6  $\pm$  11,5

Wenn wir zur Beurteilung dieser Werte den mittleren Fehler unserer Mittelwerte und der Differenz zwischen den Mittelwerten der Länge von beblätterten Stengeln brandiger und gesunder Hirsepflanzen berechnen, so erhalten wir folgende Werte:

Mittlere Länge von beblätterten Stengeln brandiger Pflanzen 
$$57.3\pm1.0$$
 Differenz Mittlere Länge von beblätterten Stengeln gesunder  $=20.7$  Pflanzen  $36.6\pm0.692$  m Differenz  $=\pm\sqrt{1.0^2+0.692^2}=\pm1.22$ .

Da die Differenz zwischen den Mittelwerten der Länge von beblätterten Stengeln brandiger und gesunder Hirsepflanzen größer ist als das dreifache des mittleren Fehlers dieser Differenz, so ist die Tatsache, daß die beblätterten Stengel von brandigen Hirsepflanzen länger sind als die gesunden, somit erwiesen.

Aus unseren Messungen geht ferner hervor, daß die beblätterten Stengel bei brandigen Pflanzen etwa 1½ Mal länger sind als bei den gesunden Hirsepflanzen. Das entspricht der von uns in der ersten Arbeit festgestellten vermehrten Blätterzahl (im Vergleich zu gesunden Pflanzen) von brandiger Hirse. Die Zahl der Blätter bei gesunden Pflanzen betrug nach unseren variationsstatistischen Untersuchungen 7, wogegen brandige Pflanzen 10 Blätter aufweisen.

Tabelle 2.
Gesamtlängenmessung von gesunden Hirsepflanzen.
(Stengelbasis- Rispenspitze.)

	Gesamtlänge in Zentimetern									
	20-30	30-40	40 - 50	50 60	60-70	70-80	80-08	90-100	100-110	1
Zahl der gemessenen gesunden Pflanzen	1	5	5	28	45	81	53	44	17	1

I)er Mittelwert der Gesamtlänge in Zentimetern von gesunden Pflanzen: G = 76.96 + 12.1.

Tabelle 3. Gesamtlänge von brandigen Hirsepflanzen. (Stengelbasis-Spitze des längsten Hüllblattes.)

			Gesa	mtlä	nge	in Z	entin	nete	rn	_
	20—30	30—40	40 - 50	50 - 60	02—09	70 - 80	06-08	90-100	100-110	
Zahl der gemessenen brandigen Pflanzen	1	10	12	21	35	43	61	51	23 6	;

Der Mittelwert der "Gesamtlänge" (in Zentimetern) von brandigen Pflanzen: "G" =  $78.73 \pm 18.9$ .

Aus diesen Zahlen geht hervor, daß brandige Hirsepflanzen infolge ihrer oberständigen Blätter, die bis zur Pflanzenreife ihre aufrechte Stellung beibehalten, höher als gesunde erscheinen. Wenn wir hier noch einmal auf die oberständigen Blätter hinweisen, so geschieht das aus dem Grunde, daß die Entwicklung und aufrechte Stellung der oberständigen Blätter für die "Gesamtlänge" (und auch für das ganze Habitusbild) von brandigen Hirsepflanzen ausschlaggebend sind.

Was das Längenwachstum des Stengels und der Blütenrispe brandiger Hirsepflanzen anbelangt, so verläuft das Stengelwachstum bei brandigen Pflanzen energischer als bei gesunden (das kommt z.B. in einer vermehrten Blätterzahl solcher Pflanzen zum Ausdruck), während die Blütenrispe in ihrem Wachstum stark zurückbleibt und durch die massenhafte Bildung von Brandsporen vollständig zerstört wird.

Auch beim Weizen tritt die Hemmung im Längenwachstum von brandigen Ähren deutlich hervor. So haben wir im Sommer 1935 das Längenwachstum flugbrandbefallener und gesunder Weizenähren verglichen und die Länge der Ähren vom obersten Scheideknoten bis zur Ährenspitze gemessen. Wir haben dabei folgende Zahlen (in Zentimeter) erhalten:

Mittlere Länge von 122 gesunden Ähren =  $47.21 \pm 10.3$ .

Mittlere Länge von 115 brandigen Ähren =  $30.13 \pm 4.3$ .

Wenn wir nun die Ergebnisse unserer Untersuchungen über die Entwicklung von Brand auf das Längenwachstum der Hirsepflanze kurz zusammenfassen, so kommen wir zu folgenden Schlüssen:

- 1. Bei der Beurteilung der Einwirkung des Hirsebrandes auf das Längenwachstum der Wirtspflanze müssen zwei Momente auseinander gehalten werden:
  - a) Einwirkung des Brandpilzes auf das Wachstum des beblätterten Stengels.
  - b) Einwirkung des Pilzes auf das Wachstum der befallenen Blütenrispe.
- 2. Auf die Stengel- und Blattentwicklung von brandigen Hirsepflanzen übt der Brandpilz eine stimulierende Wirkung aus, die in einer vermehrten Blätterzahl und einer im Vergleich mit gesunden Pflanzen größeren Länge der beblätterten Stengel von brandigen Pflanzen zum Ausdruck kommt.
- 3. Die durch den Brandpilz vollständig zerstörte Blütenrispe der kranken Hirsepflanze wird von den breiten Blätterscheiden der oberständigen Blätter umhüllt; das Längenwachstum von brandbefallenen Blütenrispen wird sistiert, so daß die Brandbeule bis zur Reife in der sie umgebenden Blätterhülle versteckt bleibt.

Diese verschiedenen Einwirkungen des Brandpilzes auf die befallenen Pflanzenteile (eine stimulierende Wirkung auf den beblätterten Stengel und eine hemmende – auf die Blütenrispe) muß wahrscheinlich von der verschiedenen Intensität der Mycel- und Sporenentwicklung des Pilzes (Mycel in wachsenden Stengeln und Blättern. Sporen in der zerstörten Blütenrispe) abhängen.

Bei unseren Untersuchungen über den Einfluß von Brandpilzen auf die Wirtspflanze fiel uns die Ähnlichkeit im Habitusbild von brandbefallenen Hirse, Mais und Sorghum auf. Die von Sorosporium reilianum Mc. Alpine befallenen weiblichen Blütenstände beim Mais und die Rispen von Sorghum bilden Brandbeulen, welche den Gebilden, die an brandbefallenen Hirsepflanzen entstehen, vollkommen gleichen. Ebenso wie bei brandiger Hirse tritt bei Mais und Sorghum bei der Infektion mit Sorosporium eine vermehrte Bildung von oberständigen Blättern ein, wobei die Brandmasse

von der verbreiteten Blattscheide solcher Blätter umschlossen wird. Auf den Abbildungen 2 und 3 sind brandbefallene Mais- und Sorghumblütenstände abgebildet.

Wir heben diese Erscheinung hervor, um darauf hinzuweisen, daß unter dem Einfluß von parasitischen Pilzen die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Vertretern einer Familie deutlicher hervortreten, indem solche Pflanzen im kranken Zustande ein ähnliches Habitusbild aufweisen. Vielleicht könnte diese Erscheinung in gewissen Fällen,



Abb. 2. Von Sorosporium befallenes Sorghum (nach Bondarzew)



Abb. 3.

Von Sorosporium befallener Mais.

(Kombiniert nach einem Photo
von S. D. Mironow).

neben der von Vavilov vorgeschlagenen Beurteilung der Pflanzenverwandtschaft nach der Resistenz gegen parasitische Pilze, zur Aufklärung von systematischen Fragen in der Botanik beitragen.

Unsere beiden Arbeiten über den Einfluß von Hirsebrand auf die Wirtspflanze wurden auf Versuchsparzellen der Landwirtschaftlichen Timirjasjewschen) Akademie in Moskau ausgeführt.

#### Schriftenverzeichnis.

- Brefeld, O.: Untersuchungen aus dem Gebiet der Mykologie. 1895, II.
- Brefeld, O.: Untersuchungen aus dem Gesamtgebiet der Mykologie. 1912, 15.
- Buchheim, A. und Schmanew, M.: Zur Frage über die Einwirkung des Brandes auf die Entwicklung der Hirse. Morbi Plant. 1926, 15 (Russisch).
- Buchheim, A.: Einfluß von Ustilago panici-miliacei auf Entwicklung und Wachstum der Wirtspflanze. Zeitschrift für Botanik. 1930, 23, 245—250.
- Jaczewski, A.: Jahresbericht über die Beschädigungen und Krankheiten der Pflanzen in Rußland. 1912, Jahrgang VI (Russisch).
- Morosow, B.: Sur l'influence des Ustilaginées sur les plantes. Bul. Stat. pour la défence des plantes, Stavropol. 1928 (Russisch).
- Sampson, K. and Davies, D. W.: The influence of Tilletia tritici and Tilletia laevis on the growth of the certain wheat varieties. Ann. appl. biol. 1927, 14.
- Taliev, V. et Grigorovic, A., m-lle: De l'influence du charbon (Ustilaginées) sur la plante nourricière. Travaux de la Sect. de Mycol. et de Phytopath. de la Soc Bot. de Russie. 1923, I. Trav. de la divis. de Moscou. (Russisch).
- Vavilov, N.: Immunity of plants to infecticus Diseases. Ann. de l'Acad. agronomique Petrowskoje (près de Moscou), Année 1918. 1919 (Russ. mit engl. Zusammenfassung).

# Erste Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Bodenaktivität und Pflanzenwuchs mit einem neuen physikalischen Meßgerät.

(Eine vorläufige Mitteilung.)

Von

Forstrat Dr. Karl M. Müller, Feuchtwangen, Mittelfranken (Bayern 1).

Mit 2 Textabbildungen.

Das Standortsproblem in der Biologie ist aufs engste verknüpft mit dem Wünschelrutenproblem. Diesem liegt die Tatsache der Beziehungen zwischen Bodenaktivität und "Bodenempfindlichkeit" des Menschen zugrunde, d. h. der Empfindlichkeit vieler Menschen gegenüber Einflüssen geophysikalischer Natur. Man versteht darunter aber auch die Darstellung und Klärung der Beziehungen zwischen Bodenaktivität und dem Gesundheitszustand der Lebewesen (Pflanze, Tier, Mensch). Es darf als bekannt vorausgesetzt werden, daß die dem Wünschelrutenproblem zugrundeliegende Bodenaktivität im allgemeinen Sprachgebrauch die Bezeichnung "Erdstrahlen" führt.

Vor zwei Jahren habe ich in einer ersten Abhandlung über Beziehungen zwischen "Erdstrahlen" und dem Wuchs von Wald- und Obstbäumen berichtet<sup>2</sup>). Die damals mitgeteilten Forschungsergebnisse beruhten noch ausschließlich auf Untersuchungen mit der Wünschelrute.

Inzwischen ist es möglich geworden, wie ich schon auf der Bonner Tagung des Deutschen Forstvereins im September 1934 berichtet habe<sup>8</sup>), die Existenz und Intensität der "Erdstrahlen" durch ein Meßgerät exakt

- 1) Die vorstehende Arbeit ist vorwiegend wegen ihrer Methodik und der Art ihrer Argumentation aufgenommen. Die Schriftleitung der Zeitschrift betont jedoch ausdrücklich, daß sie sich mit den Schlußfolgerungen des Autors und seiner positiven Einstellung zum Wünschelrutenproblem in keiner Weise identifiziert, und daß weitere Veröffentlichungen zu den vom Autor angeschnittenen Fragen in der Phytopathologischen Zeitschrift nicht gebracht werden können.

  G. Gaßner.
- <sup>2</sup>) Dr. Karl M. Müller: Neue Wege des Waldbaues. (Ein vorläufiger Bericht.) Erschienen in: "Der Deutsche Forstbeamte", Heft 28, 1933. Verlag Steup & Bernhard, Berlin N 65.
- 3) Dr. Karl M. Müller: Erdstrahlen und Pflanzenwuchs. Ein unerforschter Standortsfaktor in Waldbau und Obstbau. Vortrag gehalten auf der Tagung des Deutschen Forstvereins in Bonn 1934. Erschienen im . Jahresbericht des Deutschen Forstvereins, 1934. Verlag: Reichsnährstand Verlags-G. m. b. H., Berlin SW 11.

nachzuweisen, das durch Diplom-Ingenieur W. E. Kniel, Stuttgart, entwickelt wurde. Bei diesem Verfahren wird ein bisher noch unbekannter Vorgang in gewissen Stoffen dazu verwendet, um unter dem Einfluß einer Strahlung den Zeiger eines elektrotechnischen Meßinstrumentes zum Ausschlag zu bringen.

In meinen vorausgegangenen Darlegungen und Veröffentlichungen, die im wesentlichen noch programmatischen Charakter trugen, habe ich als ein Hauptergebnis bekannt gegeben, daß nach meines Mitarbeiters Loy und meinen Untersuchungen zwischen Pflanze und Bodenstrahlung eine natürliche Korrelation besteht, d. h. Bäume, Sträucher und Kleinpflanzen ordnen sich in eine strahlenempfindliche und eine strahlenbedürftige biologische Gruppe. Eine Störung dieser natürlichen Korrelation zwischen Pflanze und Bodenstrahlung hat Naturauslese zur Folge, die sich äußert in Wuchshemmungen, Wuchsstörungen mit Krankheiten und vorzeitigem Tod. Ein wichtiger Bestandteil der neuen pflanzenökologischen Erkenntnisse ist u. a. auch, daß strahlenbedürftige Arten, um leben zu können, auf Standortsbestrahlung angewiesen sind.

Die allgemeine Verbreitung der neuen Strahlung in der Natur einerseits, ihr unregelmäßiges Auftreten anderseits bedingen, wie ich dargelegt habe, in sehr ausschlaggebendem Maße einen Großteil der dem Forstmann, Gärtner, Obstbauer und Weinbauer wohlbekannten und praktisch für sie sehr bedeutsamen Ausfallerscheinungen, der Erscheinungen des Kümmerns und Kränkelns u. a. m., deren primäre Ursachen bisher meist unenträtselt waren und auf den sogenannten "sprunghaften Wechsel in der Bodenverfassung" zurückgeführt wurden.

Seit zwei Jahren wird nun von meinen Mitarbeitern und mir unentwegt an Beweisführung und Objektivierung der mittels Wünschelrute gewonnenen Untersuchungsergebnisse gearbeitet. Die hierzu eingeschlagenen Wege sind: die Untersuchung mittels eines objektiven, d. h. unter Ausschaltung des Menschen arbeitenden physikalischen Meßgeräts und der biologische Versuch. Die Ergebnisse sind in beiden Fällen eindeutig positiver Natur und beweiskräftig.

Nachdem ich in meinen bisherigen Veröffentlichungen die allgemeine Bedeutung der Erdstrahlenforschung für die verschiedenen Teilgebiete der angewandten Pflanzenbiologie sowie den Umfang ihrer wissenschaftlichen und praktischen Bedeutung aufgezeigt und hierbei die Tatsache des Gelingens einer objektiven Beweisführung mittels physikalischen Meßgeräts kurz erwähnt hatte, soll nun über die Methode der Beweisführung und deren Ergebnisse im einzelnen berichtet werden.

In der vorliegenden Arbeit kommt es mir darauf an, unter bewußtem Verzicht auf eine erschöpfende Darstellung der gefundenen Wechselbeziehungen an Hand eines einzigen Untersuchungsbeispieles lediglich für das Grundsätzliche den Nachweis zu erbringen. Die Richtigkeit der übrigen aufgestellten Beziehungen zwischen Erdstrahlen und dem Wuchs der Holzgewächse kann in gleichem Verfahren bewiesen werden.

Untersuchungsobjekt ist ein Ausschnitt aus einer gleichaltrigen Fichten-Fohrenpflanzkultur, in der sich Kümmerwuchs, Kränkeln und Ausfallerscheinungen sowohl bei Fichte wie bei Fohre bemerkbar machen. Beide Holzarten gehören der in der Einleitung erwähnten strahlenempfindlichen Gruppe an. Der Ausschnitt wurde an einer Stelle gewählt, wo die Ausfallerscheinungen sich häufen, während der übrige Teil der Kulturfläche nur vereinzelt davon betroffen ist.

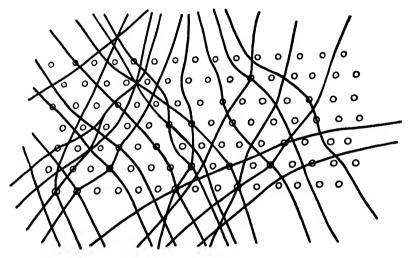


Abb. 1.

Naturgetreue Skizze des Strahlenbildes eines Ausschnittes der Untersuchungsfläche. Die einzelnen Pflanzen sind durch kleine Ringe gekennzeichnet. Die gewundenen Linien stellen den Verlauf der schmalen Reizstreifen dar, wie er mittels Wünschelrute gefunden wurde. Kreuzweise von diesen Linien geschnittene Ringe bedeuten je eine totc. einfach geschnittene Ringe je eine kränkelnde Pflanze.

Untersuchungsort: Walddistrikt II. 2 a Vorderer Weidenbusch. Stadtwaldung Feuchtwangen (westliches Mittelfranken, Bayern).

Gelände: Ebener Standort; Saumkahlschlagfläche am Nordostsaum eines 130-jährigen Kiefernbestandes von gutem Wuchs. Die Pflanzung ist vom Altbestandsrand ca. 30 m entfernt.

Boden: Sandiger Lehmboden, aus Burgsandsteinwitterung hervorgegangen, von guter Wasserführung (nicht sehr tiefer Grundwasserstand!) und nährstoffreich. Durch die der Pflanzung vorausgegangene Stockrodung war der Boden aufgelockert worden. Durch Grabenlegung hat man etwaiger Vernässung vorgebeugt. Die Bodenverhältnisse weisen auf der etwa 150 m langen Kahlfläche kaum irgendwelche merklichen Verschiedenheiten auf. Der zur eigentlichen Untersuchung verwendete Ausschnitt der Kulturfläche hat eine Länge von 22 m und eine Breite von 7 m. Die Bodenverhältnisse dieser kleinen Fläche können als einheitlich angesehen werden.

Waldbild: Im Zeitpunkt der Untersuchung (Herbst 1934) waren auf dem zirka 150 qm großen Ausschnitt der Kulturfläche zahlreiche Ausfallerscheinungen an Fichte und Fohre wahrzunehmen. Die Ausfälle waren unregelmäßig über das Feld verteilt. Eine größere Anzahl von Pflanzen trug—ebenfalls in unregelmäßiger Verteilung—Kennzeichen des Kümmerns und Kränkelns an sich. Die übrigen Pflanzen waren normal und hatten gesundes Aussehen. Die Pflanzung war im Frühjahre 1934 mit nur kräftigem, gleichmäßigem, verschultem Pflanzmaterial (vierjährig verschulte Fichten, dreijährig verschulte Fohren) in sorgfältiger Arbeit unter Überwachung angelegt worden. Abstand der Pflanzreihen sowie der Pflanzen innerhalb der Reihe beträgt 1 m.

Die Kultursläche stand von Beginn der Pflanzung an unter laufender Beobachtung. Bereits nach drei Monaten hat sich bei einzelnen Fohren und Fichten Kränkeln bemerkbar gemacht, das gegen den Herbst zum Absterben der Pflanzen führte, während andere, oft dicht daneben befindliche Exemplare gutes Gedeihen zeigten. Einzelne Fohren haben bereits nach drei bis vier Monaten auszufallen begonnen. Insektenbeschädigungen oder Pilzbefall konnten in keinem Falle wahrgenommen werden. Mit der Trocknis des Jahres 1934 konnten die Ausfälle bei ihrem ganz unregelmäßigen Auftreten und der geringen Tiefe des Grundwasserspiegels nicht gut in Verbindung gebracht werden.

Die Untersuchung mittels Wünschelrute hatte zum Ergebnis daß sowohl die kränkelnden wie toten Fichten und Fohren mit wenigen Ausnahmen sich in ihrem engsten Standort über "Reizstreifen" befanden, während über gesunden Pflanzen die Wünschelrutenreaktion ausblieb. Unter "Reizstreifen" sind solche Bodenstellen zu verstehen, über denen der bodenempfindliche Mensch (Rutengänger) Ausschläge Wünschelrute bekommt. Es zeigte sich, daß die wirksame Breite der Reizstreifen sehr schmal ist (15 bis 20 cm). Die Reizstreifen konnten mittels Wünschelrute auf ihrem Weg durch die Pflanzung und darüber hinaus in den Altbestand verfolgt werden. Sie werden auf der Untersuchungsfläche durch zahlreiche in anderer Richtung verlaufende derartige Reizstreifen kreuzweise geschnitten. Die toten Pflanzen befanden sich regelmäßig jeweils über derartigen Kreuzungsstellen. Die kränkelnden Pflanzen dagegen wurden regelmäßig über einfachen Reizstreifen gefunden, sodaß die Schlußfolgerung nahelag, es bei den Kreuzungsstellen mit einer intensiveren biologischen Wirkung der Bodenaktivität zu tun zu haben. Durch Verfolgung der einzelnen Reizstreifen mit der Wünschelrute stellte sich heraus, daß dieselben hier wesentlich dichter beisammen liegen und sich infolgedessen häufiger überschneiden als an anderen Stellen der gleichen Kulturfläche Sie bilden im ganzen ein dichtes Netz, auf dessen Adern und Knotenpunkten die kränkelnden und toten Pflanzen stehen (siehe Abb. 1). Gesunde Pflanzen werden von den Reizstreifen nicht berührt.

## Meßergebnis.

Die objektive Untersuchung und Nachprüfung der mittels Wünschelrute gefundenen biologischen Zusammenhänge wurde mit dem Knielschen physikalischen Meßgerät hier in der Weise vorgenommen, daß bei 100 Einzelpflanzen in laufender Reihenfolge die Intensität der Bodenstrahlung abgelesen und zugleich der Gesundheitszustand der einzelnen untersuchten Pflanzen festgestellt wurde. Die Messungen erfolgten in 1 m Höhe und genau senkrecht über jeder Einzelpflanze.

Untersucht wurden 85 Fichten und 15 Fohren. Aussehen und Gesundheitszustand der untersuchten Pflanzen wurde in drei Abstufungen be-



Gesundheitszustand der Pflanzen in Funktion der Strahlung. Abbildung zeigt, wie sich die 100 Pflanzen des Untersuchungsbeispieles unter dem Einfluß wachsender Strahlungsintensität nach ihrem Gesundheitszustand gruppieren. Die über den einzelnen Säulen befindlichen Ziffern bedeuten die den Strahlungsintensitäten entsprechenden Pflanzenzahlen.

wertet: gesund, kränkelnd, tot. Als "gesund" wurden angesprochen alle Pflanzen mit normalem dunkelgrünen Aussehen ohne Nadelbräune und Nadelverluste. Als "kränkelnd" wurden solche Pflanzen bezeichnet, die auffallenden Kümmerwuchs zeigten und (namentlich bei der Fichte) von gelblich-grüner Nadelfarbe waren, ferner Nadelbräune oder schon teilweise Entnadelung aufwiesen. Als "tot" wurden jene Pflanzen eingetragen, die bereits völlig entnadelt waren oder nur mehr ganz wenige braune Nadeln besaßen.

Die Meßergebnisse im einzelnen werden durch nachstehende Übersicht wiedergegeben. In Spalte 5 dieser Übersicht wird für jede einzelne Pflanze durch Beisetzen der Buchstaben E (= über einfachem Reizstreifen stehend) oder K (= über Kreuzungsstelle von Reizstreifen stehend) oder O (= unbestrahlt stehend) das Strahlenbild auf Grund des Wünschelrutenbefundes angegeben. (Siehe Übersicht S. 629).

Die statistische Auswertung dieser Meßergebnisse geht aus Abbildung 2 hervor.

Die Statistik des Schaubildes läßt folgende Schlußfolgerungen zu:

- Das Gebiet der gesunden Pflanzen beginnt bei 0 und endet bei 0,6 Teilstrichen der Intensitäts-Skala, d. h. keine Pflanze kann bei einer Strahlungs-Intensität von über 0,6 mehr gedeihen.
- 2. Das Gebiet der kränkelnden Pflanzen beginnt bei 0,6 und endet bei 1,5. Von insgesamt 15 kränkelnden Pflanzen befindet sich in dem Gebiet unter 1,0 noch 1 Stück. Dieselbe steht unter gleicher Strahlungsintensität wie 23 andere gesunde Pflanzen. Das heißt: Für 4,4% der kränkelnden Pflanzen ist die Ursache des Kränkelns in vorliegendem Untersuchungsbeispiel entweder in geringerer Strahlungsintensität oder in anderen Einflüssen oder in beiden Umständen zusammen zu suchen. Für 95,6% liegt die Strahlungsintensität zwischen 1,0 und 1,5 und ist die Ursache ihres Kränkelns in diesem Umstande zu erblicken.
- 3. Das Gebiet der toten Pflanzen beginnt bei 0,6 und endet bei 5,4. Von insgesamt 15 Pflanzen sind eine in dem Gebiet der gesunden, eine im Gebiet der kränkelnden und 13 im engeren Gebiet der ausschließlich toten Pflanzen, dessen Intensität bei 2,1 beginnt. Das heißt: 13,3 % sind durch geringere Strahlungsintensität oder durch andere Einflüsse oder durch beide Umstände zusammen, 86,7 % sind allein an Erdstrahlen, und zwar durch höhere Intensität zugrundegegangen.

Zu einer Gegenüberstellung der Meßergebnisse und des Wünschelrutenbefundes (Spalte 5 der Übersicht) führt folgende ziffernmäßige Aufstellung:

G 33 14 4 3		Es stehen über					
Gesundheitszustand der Pflanzen	Pflanzenzahl	Kreuzungsstellen von Reizstreifen	einfachen Reizstreifen	unbestrahlt			
Tot	15	14	1	_			
Kränkelnd	15	_	15				
Gesund	70		1	69			
	100	14	17	69			

Übersicht der Einzelmessungen.

-									
		Strah-			11 1		Strah-		1
Lfd. Nr.			Gesund-	Strahlen-	Ä			Gesund-	Strahlen-
	Holzart	lungs-	heits-			Holzart	lungs-	heits-	
Œ		inten-	zustand	bild	Lfd.		inten-	zustand	bild
17		sität	a coolant				sität	Dastana	1
		<u> </u>			-				<del> </del>
		D.3. 1	<b>337</b> O		II I	T31 - 1 - 4 -	0.0		
		Reihe I	: W-U		51	Fichte	0,6	gesund	0
11	Fichte	0,3	gesund	0	52	Fichte	0,6	gesund	0
2	Fichte	2,1	tot	K	53	Fichte	0,3	gesund	0
					54	Fohre	0,3	gesund	0
3	Fichte	0,3	gesund	0	55	Fichte	2,9	tot	K
4	Fichte	1,0	kränkelnd	E	56	Fichte	0,3	gesund	$\overline{0}$
ő	Fichte	1,0	kränkelnd	E	57	Fichte			ŏ
6	Fohre	2,9	tot	K			0,3	gesund	
7	Fichte	2,9	tot	K	58	Fichte	0,8	gesund	0
8	Fichte	0,6	gesund	ō	59	Fichte	0,3	gesund	0
9	Fichte		gcound	ŏ					
-		0,0	gesund		1		Reihe I	V: O-W	
10	Fichte	0,3	gesund	0				_	
11	Fichte	0,0	gesund	0	60	Fohre	0,8	gesund	0
12	Fohre	2,1	tot	K	61	Fichte	0,6	gesund	0
13	Fichte	0,3	gesund	0	62	Fichte	0,3	gesund	0
14	Fichte	0,3	gesund	Ŏ	63	Fichte	1,5	kränkelnd	E
15	Fichte	5,4	tot	ĸ	64	Fichte			ō
		5,4					0,6	gesund	
16	Fichte	0,6	gesund	0	65	Fichte	0,3	gesund	0
17	Fichte	0,3	gesund	0	66	Fichte	0,3	gesund	0
18	Fohre	0,6	gesund	0	67	Fichte	1,0	kränkelnd	E
19	Fichte	0,0	gesund	0	68	Fichte	0,3	gesund	0
20	Fichte	0,3	gesund	Ö	69	Fohre	2,9	tot	K
	2 201100	1 0,0	Bonana	· ·	70	Fichte	5,4	tot	K
								_	Ö
		Reihe II	: 0—W		71	Fichte	0,3	gesund	
41.1	17.1				72	Fichte	0,3	gesund	0
21	Fohre	0,6	gesund	0	73	Fichte	0,3	gesund	0
22	Fichte	0,6	gesund	0	74	Fichte	0,5	gesund	0
23	Fichte	1,0	kränkelnd	E	75	Fichte	0,5	gesund	0
24	Fichte	0,6	gesund	0	76	Fichte	0,3	gesund	0
25	Fichte	1,5	tot	K	77	Fichte		kränkelnd	Ě
26	Fichte	0,3	gesund	ō			1,5		
27	Fohre	2,1	tot	ĸ	78	Fichte	0,3	gesund	0
					}		Datha 17	. 317 ()	
28	Tichte	0,3	gesund	0	1	,	reine A	: <b>W</b> -0	
29	Fichte	2,1	tot	K	791	Fichte	0,5	tot	E
30	Fichte	1,5	kränkelnd	)E	80	Fichte	0,6	gesund	$\bar{\mathbf{o}}$
31	Fichte	0,0	gesund	0					É
32	Fichte	0,3	gesund	0	81	Fichte	1,5	kränkelnd	
33	Fohre	2,9	tot	ĸ	82	Fohre	0,6	gesund	0
34	Fichte	0,3	gesund	õ	83	Fichte	0,3	gesund	О
			kränkelnd	Ĕ	84	Fichte	1,0	kränkelnd	$\mathbf{E}$
35	Fichte	1,5	_ 1		85	Fichte	0,3	gesund	0
36	Fichte	0,6	gesund	0	86	Fichte	0,5	gesund	0
37	Fichte	5,4	tot	K	87	Fichte	0,8	gesund	ŏ
38	Fichte	0,6	kränkelnd	E					
39	Fohre	0,3	gesund	0	88	Fichte	0,3	gesund	ō
40	Fichte	0,6	gesund	E	89	Fichte	1,0	kränkelnd	K
101	1 101100	1 0,0 1	Bosuna	-	90	Fichte	0,6	gesund	0
					91	Fichte	0,3	gesund	0.
		Reihe II	I: W—0		92	Fichte	0,6	gesund	0
411	This bas				93	Fohre	1,0	kränkelnd	E
41	Fichte	0,3	gesund	0	94	Fichte	0,3	gesund	ő
42	Fohre	0,6	gesund	0					
43	Fichte	0,3	gesund	0	95	Fichte	0,3	gesund	0
44	Fichte	1,0	kränkelnd	E	96	Fichte	0,3	gesund	О
45	Fichte	0,3	gesund	0			) - 11. ···	T 0 ***	
46	Fichte	0,6	gesund	ŏ		1	teine V	I: 0-W	
47	Fichte	2,9	tot	ĸ	971	Fichte	0,8	gesund	0
48	Fohre	0,0	gesund	0	98	Fichte	0,6	gesund	0
49	Fichte	1,0	kränkelnd	E	99	Fohre	0,3	gesund	. 0
50	Fichte	0,0	gesund	0	100	Fichte	0,0	gesund	0

Das statistische Ergebnis dieser Gegenüberstellung ist folgendes: Von den toten Pflanzen stehen 93,3 % über Kreuzungen von Reizstreifen, 6,7 % (eine Pflanze) über einem einfachen Reizstreifen, hingegen keine auf unbestrahltem Standort. Das heißt: Die Todesursache des weitaus größten Teiles der abgestorbenen Pflanzen ist auf die Strahlungsform der Kreuzungsstellen von Reizstreifen zurückzuführen.

Die graphische Darstellung ergibt, daß die toten Pflanzen überwiegend im Bereiche der höheren Strahlungsintensität liegen. Nachdem nun auf Grund des Wünschelrutenbefunds die toten Pflanzen zu 93,3 % % über Kreuzungen von Reizstreifen ihren Standort haben, ist zugleich erwiesen, daß Kreuzungsstellen von Reizstreifen gegenüber den einfachen Reizstreifen eine erhöhte Strahlungsinten-sität aufweisen. Diese erhöhte Strahlungsintensität über Kreuzungen beträgt im vorliegenden Untersuchungsbeispiel das zwei- bis vierfache gegenüber dem einfachen Reizstreifen, der selbst wiederum verschiedene Intensitätsgrade aufweisen kann. Die Strahlungsintensität eines einfachen Reizstreifens hat innerhalb eines Wachstumszeitraumes von sechs Monaten (Mai bis Oktober) bei vierjährig verschulten Fichten und dreijährig verschulten Fohren nur in einem Falle genügt, um den Tod einer Pflanze herbeizuführen.

Von den kränkelnden Pflanzen sind 100%, über einfachen Reizstreifen, dagegen keine über Kreuzungsstellen und auf unbestrahltem Standort gefunden worden. Daraus geht hervor, daß der einfache Reizstreifen zwar einen biologischen Einfluß auf Holzarten einer strahlenempfindlichen Gruppe ausübt. Dieser Einfluß ist aber ceteris paribus in seiner Wirkung wesentlich geringer als derjenige von Kreuzungsstellen, was sich zum Teil aus dem Vergleiche der Strahlungsintensitäten ergibt.

Von den gesunden Pflanzen wurden mittels Wünschelrute 98,6% o/o über unbestrahltem Standort gefunden, während nur 1,4% (eine Pflanze) sich unmittelbar über einem einfachen Reizstreifen befand.

Die Beziehungen zwischen dem Gesundheitszustand der untersuchten Pflanzen und den Mittelwerten der gemessenen Bodenaktivität sind in nachstehender Übersicht dargestellt:

Anzahl der Pflanzen Stück	Mittelwert der Strahlungs-Intensität	Gesundheitszustand der Pflanzen		
100	0,87	gemischt		
15	1,14	kränkelnd		
15	2,94	tot		
70	0,37	gesund		

Aus dieser Aufstellung geht eindeutig hervor, daß in dem dargelegten Untersuchungsbeispiel der Gesundheitszustand junger Fichten- und Fohrenpflanzen eine Funktion der Standortsbestrahlung darstellt.

Im ganzen sagen die Meßergebnisse in Verbindung mit dem Wünschelrutenbefund über die Beziehungen zwischen Standortsbestrahlung und dem Gesundheitszustand junger verschulter Pflanzen der Holzarten Fichte und Fohre folgendes aus:

Fichte und Fohre werden beide durch Erdstrahlen in ihrem Wuchs und Gesundheitszustand ungünstig beeinflußt. Sie finden ihr Gedeihen nur auf unbestrahltem Standort. Es ist daher berechtigt, diese beiden Holzarten als Vertreter einer strahlenem pfindlichen biologischen · Gruppe unter den Pflanzen zu bezeichnen.

# Zusammenfassung.

Mit den vorausgegangenen Feststellungen auf Grund objektiver Meßergebnisse ist zunächst der Nachweis dafür erbracht, daß es eine Bodenaktivität in Form von aus der Erde kommenden Strahlen gibt. Da der Wünschelrutenbefund vor der Untersuchung mit dem Meßgerät festgelegt worden ist, die Meßgerät-Untersuchungen als Nachprüfung des Wünschelrutenbefundes durchgeführt wurden und dieselben die Ergebnisse der Wünschelruten-Untersuchung vollauf bestätigt haben, ist auch erwiesen, daß die Strahlen die Wünschelrutenreaktion ursächlich zur Folge haben.

Ferner ist mit dieser Untersuchung grundsätzlich der objektive Nachweis dafür erbracht, daß die Erdstrahlen auf den Pflanzenwuchs einen Einfluß ausüben: im dargestellten Untersuchungsbeispiel treten Wuchsstörungen (Kränkeln) und Ausfallerscheinungen an jungen Fichten- und Fohrenpflanzen in überwiegendem Maße nur dann auf, wenn deren engster Standort von Reizstreifen durchzogen ist, d. h. wenn ihr Standort erhöhte Bodenaktivität in Form von Strahlung aufweist, deren Existenz und Intensität durch Zeigerausschlag am Kniel; schen Meßgerät objektiv erwiesen werden. Da das Kniel'sche Meßgerät ein nach physikalischen Gesetzen unabhängig vom menschlichen Organismus arbeitendes elektrotechnisches Meßinstrument ist, so ist ein Fehlschluß auf Grund von Selbsttäuschung ausgeschlossen.

Weitere umfangreiche Untersuchungen haben gezeigt, daß es sich bei dem vorliegenden Untersuchungsbeispiel keineswegs um einen einzigen Fall handelt, sondern daß die beschriebenen Zusammenhänge mit einer Häufigkeit auftreten, daß man wohl von typischen Zusammenhängen wird reden dürfen.

632

Nachwort des Verfassers: Das Knielsche Meßgerät ist vorläufig nicht verkäuflich. Es wird der Wissenschaft vorgestellt werden, sobald die in Zusammenhang damit stehenden physikalischen Forschungen zu einem Abschluß gebracht worden sind. Die vorliegenden Untersuchungen an Waldpflanzen sind noch als Voruntersuchungen anzusehen, die den Zweck hatten, das Meßgerät den Bedürfnissen der neuen biologischen Forschungsrichtung anzupassen. Seit dem Zeitpunkt dieser Untersuchungen (Herbst 1934) ist das Meßgerät in seinem Ausbau weiter vervollkommnet worden.

# Das Zeiß-Konimeter und seine Anwendungsmöglichkeiten.

Von

### A. Löbner.

Geophysikalisches Institut Leipzig.

Einer Anregung von Prof. Rudorf, Leipzig, folgend, möchte ich an dieser Stelle kurz über die Anwendungsmöglichkeiten des Zeiß-Konimeters, eines Staub-Meßgerätes, und über die bisher damit gemachten Erfahrungen berichten.

Das Konimeter dient im allgemeinen zur Bestimmung des Gehaltes der Luft an schwebenden Teilchen. Der Aufbau bzw. die Arbeitsweise des Apparates (1) ist kurz folgendermaßen: Mit Hilfe einer Hand- oder elektrischen Luftpumpe wird die zu untersuchende Luft durch eine feine Düse in eine gegen das Eindringen von Fremdluft abgedichtete Kammer eingesaugt. In der Kammer dicht hinter der Düse befindet sich eine drehbar: angebrachte Glasscheibe, die auf der der Düse zugewandten Seite mit einem geeigneten Klebstoff bestrichen wird. Durch die Düse erfährt die Luft eine außerordentlich große Beschleunigung, und alle, auch die feinsten Staubteile, wenn man sie so nennen soll, werden dadurch auf die Glasscheibe (Objektscheibe) gewissermaßen aufgeschossen. Die Staubteile bleiben auf dem Klebstoff haften, die Luft geht in die Pumpe weiter. Hat man nun in der zu untersuchenden Luft Staubteile verschiedener Größe, so kann man durch Vorschalten eines Filters aus gesintertem Glas (2) erreichen, daß nur Staubteile bis zu einer bestimmten Größe in die Düse gelangen. Das ist vor allem dann ein großer Vorteil, wenn, wie es bei hygienischen Staubuntersuchungen gefordert wird, die Staubteile ausgezählt werden müssen (Mikroskop). Die Objektscheibe besitzt 10-30 Einzelfelder, die der Reihe nach vor die Düse gedreht werden können. Die Scheiben sind beguem auszuwechseln und beliebig lange in geeigneten Behältern aufzubewahren, ohne daß die geringste Veränderung des Staubbildes zu befürchten ist. Man ist also in der Lage, bei Verwendung einer Anzahl solcher Scheiben zahlreiche Staubbestimmungen rasch hintereinander vorzunehmen und ohne Sorge um den Zeitpunkt der Auswertung zu bleiben. Einer der größten Vorteile des Konimeters ist, daß man mit ihm ein Staubbild gewinnen kann, in dem die Staubteile einzeln nebeneinander liegen und sich gegenseitig nicht überdecken. Dadurch ist eine

634 A. Löbner:

individuelle Betrachtung oder eine chemische oder optische Behandlung des Einzelteilchens sehr leicht möglich.

In einer größeren Untersuchung über die horizontale und vertikale Staubverteilung in Leipzig (3) habe ich mit diesem Zeiß-Konimeter eine Reihe Erfahrungen sammeln können, nach denen dieser Apparatur gerade für Staubbestimmungen, seien es solche hygienischer oder andrer Art, große Bedeutung zukommt. Alle anderen Methoden, die den Staub entweder nach Gewicht oder nach Sedimentation auf bestimmter Fläche beurteilen, sind und bleiben Verfahren für ortsfeste Messungen. Die gravimetrische sowie die Sedimentationsmethode bedingen ein Meßintervall von oft vielen Stunden, ja sogar von Tagen. Mit dem Konimeter aber kann man, wie die Untersuchungen gezeigt haben, selbst bei dem außerordentlich geringen Staubgehalt der atmosphärischen Luft auf freier Flur oder im Wald beguen auf ein Meßintervall von 3-5 Minuten herabkommen. Dieses kurze McGintervall ermöglichte es auch, unter Zuhilfenahme eines Kraftwagens in wenigen Stunden ein Bild der Staubverteilung über ein etwa 100 km<sup>2</sup> großes Gebiet in eindeutiger und reproduzierbarer Weise zu gewinnen. Ebenso ist natürlich die Messung der vertikalen Staubverteilung möglich; in Leipzig wurden solche Messungen an den Funktürmen und an hohen Kirchen vorgenommen. Idealer wären zweifellos solche Messungen im Fesselballon oder Flugzeug, sofern sie in letzterem noch möglich sind. Im Freiballon sind zwar Staubmessungen mit großem Erfolg vorgenommen worden, aber die starke und unbestimmbare Ortsveränderung des Freiballons läßt kein so kleines Versuchsfeld zu, wie es meist erwünscht ist.

Das Zeiß-Konimeter bietet also in jeder Hinsicht sehr viele und außerordentlich wichtige Vorteile. Diese Vorteile und die einfache Bedienung eines solchen Konimeters lassen die große Bedeutung dieses Apparates klar erkennen.

Auf ein sehr wichtiges Anwendungsgebiet des Konimeters sei nun noch ausführlich eingegangen. Es ist dies das Problem der Verbreitung von Epidemien — Verbreitung von Krankheitserregern aller Art. — Bei den Leipziger Untersuchungen konnten mit einem kleinen Konimeter (125 ccm Saugvolumen) ermittelt werden: 1. Die Lage der Staubherde in der Stadt, 2. Die Reichweite der Staubgefahrenzonen um die Staubherde, 3. Die allgemeine Verteilung des Staubes über das Stadtgebiet, 4. Die vertikale Staubverteilung und damit die Form des Staubabzuges nach dem Vorland.

Da nach weiteren speziellen Vorversuchen mit Weizen-Braunrostund Roggen-Schwarzrost-Sporen auf den Versuchsfeldern des Landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig auch die Anwendungsmöglichkeit der Konimetermethode auf derartige Luftverunreinigungen geprüft und als sehr gut durchführbar festgestellt werden konnte, kann

z. B. das Problem der Verbreitung von schädlichen Rostsporen ohne Bedenken in Angriff genommen werden. Bei den genannten Vorversuchen unterschieden sich die Rostsporen in ihrer Form, Farbe und vor allem in ihrer Größe ganz eindeutig von dem übrigen mit eingesaugten Staub, da dieser nach den Leipziger Untersuchungen nur von außerordentlich geringer Größe ist. Da gerade Pollen, Sporen und nicht zuletzt auch Bazillen wenn nicht an ihrer Größe, so aber meist an ihrer Form zu erkennen sind, laufen solche Untersuchungen auf weiter nichts hinaus, als auf eine zahlenmäßige, optische oder chemische Aussonderung solcher Elemente aus einer Anzahl nebeneinanderliegender Teile. Die einzigen Bedenken würden dann auftreten, wenn man vor das Konimeter ein Filter zur Abhaltung größerer Staubteile schalten müßte. Denn dann könnten durch Pollen oder Sporen, die ja oft sehr verschiedene Form besitzen (langgestreckt oder mit stielartigen Fortsätzen) Verstopfungen des Filters und damit Verfälschungen der Meßergebnisse eintreten. Von der Verwendung von Filtern kann aber vor allem bei Messungen in größeren Höhen nach den bei den Leipziger Untersuchungen gemachten Erfahrungen fast immer abgesehen werden, da sich herausgestellt hat, daß bereits wenige Meter über dem Erdboden nur noch Staubteile von weit geringerer Größe als die der Pollen vorkommen. Außerdem kann man sich dann für alle Fälle vor allzu großen Staubteilen schützen, wenn man ein Filter von besonders großer Porenweite verwendet. Bei den Versuchen mit Rostsporen 1 Meter über dem Boden waren diese durchweg größer als alle übrigen Staubteile. auch wenn man das vorgeschaltete Filter von 0,5 mm Porenweite fortließ. Und diese Sporen ließen sich auch bei dichter Lagerung der Staubteile einwandfrei feststellen.

Aus den bisherigen Ausführungen ist wohl zu ersehen, daß mit dem Konimeter nicht nur Staubmessungen schlechthin, sondern auch viele andere sehr wichtige Untersuchungen ausgeführt werden können. Bei der Bearbeitung des Problems der Verbreitung von Krankheitserregern verschiedenster Art kann das Konimeter sehr gute Dienste leisten.

Um aber eine Verbreitung von Krankheitserregern bzw. deren Entstehungsherde festzulegen, sind natürlich weit umfangreichere Versuchsanordnungen und ganz andere Transportmittel nötig, als sie zu den Untersuchungen z.B. in Leipzig gebraucht wurden. Denn in jenem Falle muß das Versuchsgebiet nicht nur auf kleine Gebiete, sondern u. U. auf ganze Länder ausgedehnt werden. Das Flugzeug bliebe dann als Transportmittel für die Meßfahrten als einziges zu erwägen. Über die Konstruktion eines Konimeters für Messungen im Flugzeug sind bereits Vorarbeiten im Gange. Ein gerade bei großen Versuchsgebieten, wie sie bei solchen Untersuchungen auftreten, unter keinen Umständen zu vernachlässigender Faktor ist die dauernde, genaue Kenntnis der herrschenden Wetterlage. Zu so groß angelegten Versuchen gehören also Fachleute verschiedener

Disziplinen, und man kann ermessen, daß derartige Untersuchungen einen nicht unbeträchtlichen Kostenaufwand bedingen müssen. Aber trotzdem dürften sich in Anbetracht der außerordentlichen Wichtigkeit und des großen wirtschaftlichen Wertes solcher Untersuchungen die hohen Kosten doch lohnen.

Naturgemäß müssen vor groß angelegten Untersuchungen viele Kleinuntersuchungen angestellt werden, die aber von ebenso großer wirtschaftlicher Bedeutung sein können. Ich denke dabei zunächst einmal an die
Feststellung des Abtransportes z. B. von Rostsporen aus einem Rost-befallenen Feld, an die Auffindung der Zugbahn, die die Sporen vom Feld
aus einschlagen, und an die Feststellung der Form des abziehenden Sporenstromes und schließlich an die Möglichkeit, aus solchen Kleinuntersuchungen schon Anhaltspunkte für einen möglichen Schutz der Felder vor
Rost-Befall zu erhalten, wie dies bei den Leipziger Staubuntersuchungen
(3) in ähnlicher Weise schon möglich war. Vielleicht genügt schon eine
geringe Anzahl solcher Kleinuntersuchungen, um Material in die Hand zu
bekommen, aus dem sich Schlüsse ziehen lassen, die über einen weiteren
Ausbau der Untersuchungen entscheiden lassen.

Es wäre sehr zu begrüßen, wenn in Bälde Mittel zu solchen in jeder Beziehung wertvollen Untersuchungen zur Verfügung gestellt werden könnten.

#### Literatur.

- 1 H. Lehmann, F. Löwe und K. A. Traenkle: Das Zeißsche Freiluft-Konimeter. Archiv für Hygiene und Bakteriologie, 1934, Bd. 112, S. 141.
- 2 Jenaer Glaswerk Schott u. Gen. Druckschr.-Nr. 4580, Apparate mit Jenaer Glasfilterplatten.
- 3 A. Löbner: Horizontale und vertikale Staubverteilung in einer Großstadt. Dissertation Leipzig 1935; gleichzeitig erschienen in den Veröffentlichungen des Geophysikalischen Instituts der Universität Leipzig, 1935, Bd. VII, H. 2.

# I. A. R. I. 75.

# INSTITUTE, LIBRARY NEW DELHI.

Date of issue.	Date of issue.	Date of issue.
9.00.6	7	
9.10.61 lebiling	6.4	•• • •••••
30.C.I1	9 <b>69</b>	** ** * * ** ********
	•••••	***************************************
• •••		*******************************
		***************************************
	1	